

Aus der Frauenklinik - Abteilung für Experimentelle
Endokrinologie - der Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

UNTERSUCHUNGEN ZUM STOFFWECHSEL VON DEHYDROEPIANDROSTERON
UND EINIGEN SULFOKONJUGATEN IN ZELLKULTUREN VON
NEOPLASTISCHEM MENSCHLICHEM GEWEBE.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

den Medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von
Rolf Troeber
aus Kassel

Mainz 1978

Aus der Frauenklinik - Abteilung für Experimentelle
Endokrinologie - der Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

UNTERSUCHUNGEN ZUM STOFFWECHSEL VON DEHYDROEPIANDROSTERON
UND EINIGEN SULFOKONJUGATEN IN ZELLKULTUREN VON
NEOPLASTISCHEM MENSCHLICHEM GEWEBE.

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

den Medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von
Rolf Troeber
aus Kassel

Mainz 1978



Fachbereichsdekan: Professor Dr. C.-H. Schweikert
1. Gutachter: Professor Dr. G.H. Rathgen
2. Gutachter: Professor Dr. V. Friedberg

Meinen Eltern

Inhaltübersicht

1. Einleitung
2. Literaturübersicht
 - 2.1. Dehydroepiandrosteron
 - 2.2. Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
 - 2.3. Das Mammakarzinom
 - 2.4. Das Ovarialkarzinom
3. Versuchsbeschreibung
 - 3.1 Untersuchte Gewebe
 - 3.2. Fallbeschreibung
 - 3.3. Aufarbeitung
4. Ergebnisse
5. Tabellen und graphische Darstellungen
6. Diskussion
7. Zusammenfassung
8. Trivialnamen und chemische Bezeichnungen
der in dieser Arbeit vorkommenden Steroide
9. Verwendete Abkürzungen
10. Literaturverzeichnis

1. EINLEITUNG

Die Frage nach dem Einfluß von Hormonen auf das Wachstum neoplastischer Gewebe ist bis heute nicht geklärt. Hauptsächlich werden sie zur Behandlung von Karzinomen hormonabhängiger Organe eingesetzt, die hormonell induziert und hormonell beeinflusbar sind.

Neuere Untersuchungen konnten zeigen, daß z.B. die Brustkrebshormontherapie in ihrer Effizienz abhängig ist vom Vorhandensein von Östrogenrezeptoren im Krebsgewebe (10, 11, 19, 25, 27, 39, 45, 54, 70). Derartige Rezeptoren könnten auch in menschlichem (11, 45, 70) und tierischem (85, 86) Uterusgewebe gefunden werden. Weiterhin fand man in zahlreichen Untersuchungen von Patientinnen mit Brustkrebs erniedrigte Plasmaspiegel an Dehydroepiandrosteron (DHEA) (12, 16, 17, 77, 88) und konnte in einer prospektiven Studie eine erniedrigte Produktion von 11-Desoxy-17-oxysteroiden bei Frauen, die einige Jahre später einen Tumor entwickelten, aufzeigen (15).

Der Einfluß von Hormonen auf die Aktivierung bzw. Hemmung von Enzymen ist seit langem bekannt. So ist die Inhibition des Schlüsselenzyms des Pentose-Phosphat-Zyklus, der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, durch DHEA bewiesen (50, 65, 66) und zahlreiche Autoren fanden eine erhöhte Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität in Krebsgeweben bei gleichzeitig erniedrigtem DHEA- bzw. DHEA-Sulfat-Plasmaspiegel.

Eine Möglichkeit, die erniedrigte Produktionsrate zu erklären, ist die Hypothese, daß DHEA und DHEA-Sulfatid oder einer ihrer Metabolite bei der Bindung der Östrogene an den Rezeptoren vermittelt, die mit

der hormonalen Abhängigkeit des Tumors vergesellschaftet ist (24, 71).

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem in-vitro Einfluß von DHEA und seiner Sulfokongulate auf das Wachstum von Zellkulturen menschlicher Ovarialkarzinome und Mammakarzinome, sowie mit dem Metabolismus des zugefügten Steroids bzw. Steroidkongulats.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. DEHYDROEPIANDROSTERON

1934 gelang es BUTENANDT und TSCHERNIG zum ersten Mal, DHEA aus menschlichem Urin zu isolieren (18). Es wird in der Nebennierenrinde gebildet (92). Seine Produktion ist abhängig von der Steuerung durch ACTH und teilweise auch durch Gonadotropine (23). Die "Normalwerte" im Plasma betragen 150 µg/100 ml Plasma bei weiblichen und 250 µg/100 ml Plasma bei männlichen Individuen (3, 59, 73). Mit einer Tagesproduktion von 10 - 40 mg ist es das quantitativ wichtigste Steroid im menschlichen Plasma (21).

DHEA-Sulfat wurde erst fünfzehn Jahre später von BAULIEU nachgewiesen und sein Metabolismus untersucht (3). DHEA-Sulfatid, der Diglyceridschwefelsäure-Ester des DHEA, wurde 1965 erstmals von OERTEL und Mitarbeitern isoliert (57). 1966 konnten RINDT, KNAPSTEIN und OERTEL im Tierversuch zeigen, daß das Steroid-Sulfatid aus dem Steroid-Sulfat entsteht (55, 62, 63, 75). Man konnte nachweisen, daß DHEA und sein Sulfatid zwei Angriffspunkte im Stoffwechsel haben:

- 1.) Vorstufe bei der Bildung von Androgenen und Östrogenen (20, 58, 59, 64)
- 2.) Inhibition der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase im Pentosephosphatzyklus (7, 8, 50, 53).

Bei der Psoriasis vulgaris, die durch erhöhte Proliferationstendenz der Epidermis gekennzeichnet ist, fand man eine erhöhte G-6-PDH-Aktivität im Blutserum (32, 74, 91), sowie einen erhöhten Substratdurchfluß im Pentosephosphatzyklus (38), die durch erniedrigten DHEA-Gehalt des Blutplasmas erklärt werden (33, 36, 37).

HOLZMANN und Mitarbeiter konnten nachweisen, daß das DHEA die Mitose menschlicher Lymphozytenkulturen hemmt (34, 35). SONKA und Mitarbeiter (78, 79) postulierten ein DHEA-Mangelsyndrom als gemeinsames pathogenetisches Prinzip für eine Reihe von Stoffwechselkrankheiten, wie z.B. vorzeitige Arteriosklerose, einige Formen der Hypertonie, Gicht und gewisse Formen der Fettleber.

Neuerdings konnte man feststellen, daß DHEA, G-6-PDH und cAMP offensichtlich in gegenseitiger Wechselwirkung stehen (60). Man fand bemerkenswert niedrige Spiegel von DHEA und cAMP in Mammakarzinomgewebe gegenüber gesundem Gewebe, wohingegen die Aktivität der G-6-PDH in Zellkulturen von neoplastischem Gewebe weit höher lag als in Zellkulturen von normalem Gewebe als auch in Zellkulturen benignen Tumoren (30), was auf die Teilnahme von DHEA an der intrazellulären Regulation von G-6-PDH und cAMP hinweist (61).

Ein erniedrigter DHEA-Plasmaspiegel als auch eine erniedrigte DHEA-Urinausscheidung bei Patientinnen mit Mammakarzinom in verschiedenen Stadien wurde von mehreren Autoren beschrieben (1, 2, 12, 16, 17, 26, 47, 88). Andere Autoren sehen in dem erniedrigten DHEA-Spiegel nur einen unspezifischen Effekt der Tumor-

erkrankung bzw. eine Folge der Erschöpfung des Organismus (28).

Neuere Untersuchungen zeigten, daß in manchen Mammatumoren ein Östrogen-Rezeptor-Protein nachweisbar ist (10, 11, 19, 30, 39, 45, 54). Solche Tumoren zeigten ein weitaus höheres Ansprechen auf ablative Hormontherapie als Tumoren ohne ein solches Rezeptorprotein (11, 45, 54). Man konnte daraufhin einen Zusammenhang zwischen hoher Östradiol-Bindungs-kapazität und hoher Aktivität der G-6-PDH und hormonaler Abhängigkeit des Tumors beweisen (19, 30).

Da immer wieder ein erniedrigter Plasma- bzw. Gewebsspiegel an DHEA und seinen Konjugaten bei verschiedenen Tumoren gefunden worden war, lag der Gedanke nahe, durch Substitution von DHEA und seinen Konjugaten das Tumorwachstum zu stoppen bzw. die Entstehung von Tumoren überhaupt zu verhindern.

In-vitro-Versuche mit Zellkulturen aus Karzinomgewebe, inkubiert mit DHEA und seinen Konjugaten, konnten einen deutlichen inhibitorischen Effekt auf das Zellwachstum aufzeigen (67, 80). Dies war bereits an Lymphozytenkulturen nachgewiesen worden (34, 35).

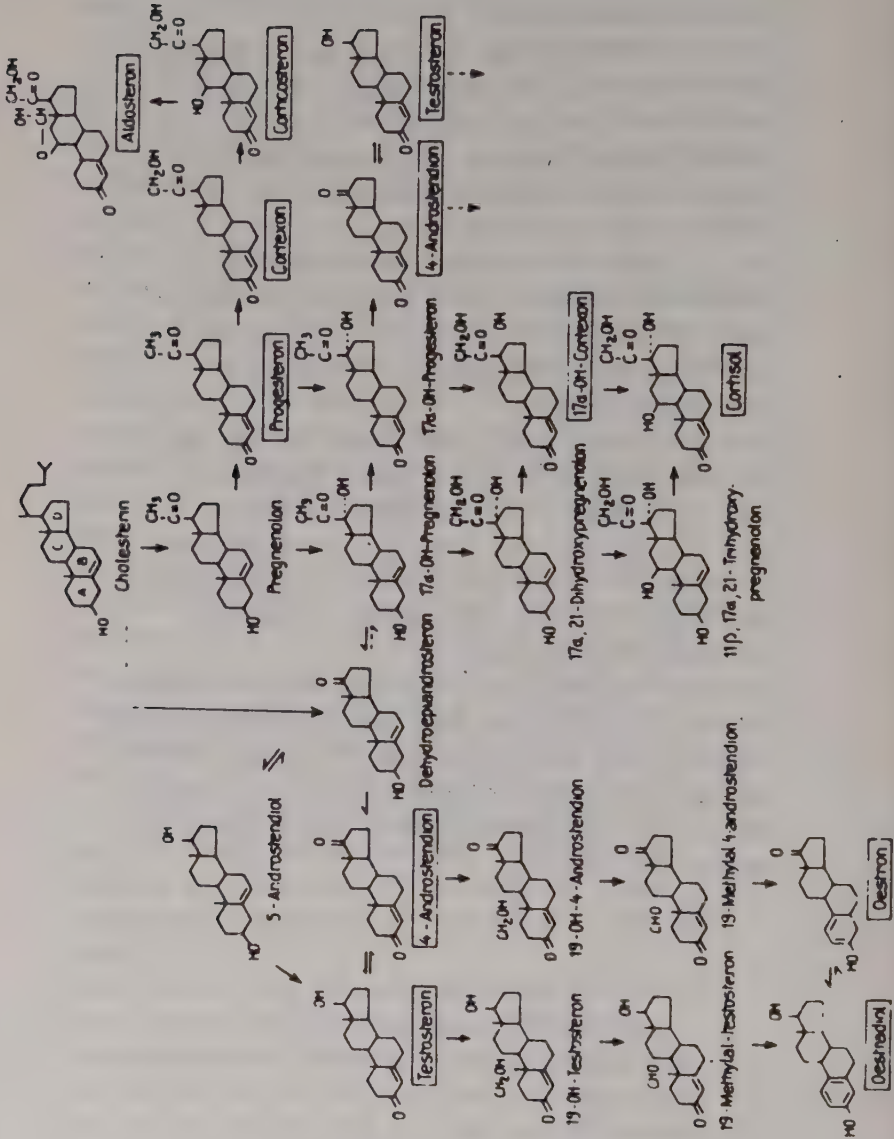


Abb. 1: Biosynthese und Metabolismus von Dehydroepiandrosteron (94).

2.2. GLUCOSE-6-PHOSPHAT-DEHYDROGENASE

Die G-6-PDH wurde zuerst von WARBURG und CHRISTIAN (1931) in Hefe beschrieben (90). Als spezifisches Coenzym fanden sie, wie später auch KIRKMAN und Mitarbeiter, NADP (43, 90). Die G-6-PDH leitet den wichtigsten Schritt im Glucoseabbau ein: die Oxidation an C₁ zu 6-Phosphogluconolacton, wobei die G-6-PDH als Coenzym den Wasserstoff auf NADP überträgt. 6-Phosphogluconolacton wird leicht zur Gluconsäure hydrolysiert und Gluconsäure-6-Phosphat wird durch ein weiteres Enzym dehydriert, wobei gleichzeitig CO₂ abgespalten wird. Über das vermutete Zwischenprodukt 3-Keto-Gluconsäure-6-Phosphat, das als β -Ketosäure leicht decarboxyliert, entsteht eine Pentose, das Ribulose-5-Phosphat, das wiederum mit der Aldose Ribose-5-Phosphat im Gleichgewicht steht. Auf diesem Wege können also Pentosen aus der Glucose entstehen (13, 40).

Die physiologische Bedeutung des Pentose-Phosphat-Zyklus liegt in der Bereitstellung von reduziertem NADPH für reduktive Biosynthesen (Fettsäure, Steroid-, usw. -Synthesen, Hydroxylierungsreaktionen) und von intermediärem Pentosephosphat für die Nucleinsäuresynthese (13, 40, 72).

Die Hemmung der G-6-PDH durch gewisse Steroide wurde von MC KERNS (53) für das Enzym aus der Nebennierenrinde und von MARKS und BANKS (50) für die G-6-PDH aus menschlichen Erythrocyten isoliert berichtet.

MARKS und BANKS zeigten, daß die G-6-PDH auch anderer säugetiergewebe durch Steroide gehemmt werden konnte, nicht jedoch die G-6-PDH, die aus Hefe isoliert werden konnte (50). Ein besonders wirksamer Inhibitor war das DHEA (9, 46, 47, 50, 51, 52, 53, 56).

2.3. DAS MAMMAKARZINOM

In der Bundesrepublik Deutschland beträgt die Morbidität an Mamma-Karzinomen nach STAEMMLER (1970) jährlich etwa 12.000 bis 15.000 Frauen. Ungefähr 25 % aller Krebserkrankungen der Frau betreffen die Brustdrüse (41). Bei epidemiologischen Untersuchungen kann man auffällige Unterschiede in der Häufigkeit des Vorkommens feststellen. In Europa tritt das Mammakarzinom signifikant häufiger auf als in Japan, Chile und Portugal (29, 49, 76). Es wird angenommen, daß die Laktation ätiologisch von Bedeutung ist. Sicher spielen auch andere unbekannte und insbesondere genetische Faktoren eine Rolle. Die Altersverteilung streut zwischen dem 40. und 75. Lebensjahr mit einem Gipfel um das 65. Lebensjahr. Man findet jedoch auch schon bei sehr jungen Frauen Mammakarzinome, die dann meist zu einem sehr foudroyanten Krankheitsverlauf führen (41). Männer sind ungleich seltener vom Mammakarzinom betroffen. Das Verhältnis männlicher : weiblicher Individuen beträgt 1 : 99. Ein Teil der Mammakarzinome ist offensichtlich hormonabhängig. Frauen, die wenige oder gar keine Kinder geboren haben, die nur kurz oder gar nicht gestillt haben, erkranken häufiger an Mammakarzinom als Frauen mit langer Lactation. Frauen, die ovariektomiert sind, erkranken seltener an Mammakarzinom (93). Ob Östrogene das Krebswachstum auslösen können, ist nicht geklärt, es konnte bisher für den Menschen nicht bewiesen werden. Bei disponierten Patientinnen können sie jedoch das Krebswachstum begünstigen. Obwohl der Entstehung eines Mammakarzinoms ein multifaktorielles Geschehen

zugrunde liegen kann, ist anzunehmen, daß Änderungen im hormonalen Gleichgewicht das Risiko einer Brustkrebserkrankung erhöhen können. Im normalen weiblichen Leben ändert sich der Hormonhaushalt außer während der zyklusabhängigen Schwankungen auch zu bestimmten Zeitpunkten: Geburt, Eintritt der Pubertät und Menopause. Wie auch graduell vom Alter, ist die Aufrechterhaltung des Hormonspiegels abhängig von der Funktion des Hypothalamus, der Ovarien, der Nebenniere und der Schilddrüse (31).

Betrachtet man diese Relation von Brustkrebs und hormonalen Abweichungen, so wurden bereits beides - sowohl erhöhte Östrogen-Exkretion (44) als auch verminderte Androgen-Exkretion - als auslösende Faktoren postuliert (4, 14, 44, 87, 88, 89).

2.4. DAS OVARIALKARZINOM

Die Zahl der Ovarialkarzinome macht etwa 3,5 % aller Tumoren bei Frauen und bis etwa 17 % aller Tumoren des weiblichen Genitaltraktes aus. Allgemein scheint die Frequenz des Ovarialkarzinoms gestiegen und heute für mehr Todesfälle verantwortlich zu sein, als etwa das Karzinom des Gebärmutterkörpers. Nach dem 50. Lebensjahr gewinnt das Karzinom einen bedrückend hohen Anteil an der Sterblichkeit (69). Nicht selten findet man es auch doppelseitig, wie besonders das solide Ovarialkarzinom (42). Die Wachstumsgeschwindigkeit von Ovarialkarzinomen ist zwar unterschiedlich, im allgemeinen aber schnell (42). Erstes Symptom ist oft eine Auftreibung des Leibes, hervorgerufen durch eine starke Aszitesbildung, die von einer schon bestehenden Peritonealkarzinose ausgeht.

Die Diagnostik beruht auf dem gynäkologischen Tastbefund, der Laparoskopie und der Probeparotomie. Die Einteilung in verschiedene Stadien wird im Gegensatz zu allen anderen gynäkologischen Karzinomen bei der Laparotomie vorgenommen. Seit der Stockholmer Konferenz von 1961 werden die an morphologischen Variationsmöglichkeiten reichen, malignen epithelialen Ovarialtumoren in die soliden Karzinome, seröse Zystadenokarzinome, endometrioiden Adenokarzinome und andere Tumoren, wie Dysgerminome und Krukenberg-Tumoren, unterteilt (42).

Die Therapie des gesicherten Ovarialkarzinoms besteht, ohne Rücksicht auf das Alter der Patientin, in der Totalexstirpation des inneren Genitale und der Bestrahlung oder zyto-statischer Behandlung.

Die Strahlentherapie ist bei nicht mehr vollständig zu entfernenden Konglomerattumoren am effektivsten, je sorgfältiger die Tumormassen operativ präpariert und entfernt wurden. Die Installation von Radiogoldlösungen in die Peritonealhöhle ist oft erfolgreicher als die übliche perkutane Strahlentherapie und Kobalt 60- oder Radiumeinlagen in das Cavum uteri, besonders bei bestehender Peritonealkarzinose, da vor allem der rezidivierende Aszites für einige Zeit verschwindet. Solide Ovarialkarzinome sprechen auf diese Behandlung nicht an. Eine Heilung wird jedoch durch die Bestrahlung nicht erreicht. Unter der Chemotherapie, besonders bei Verwendung alkylierender Substanzen (z.B. Endoxan; Trenimon), kommt es beim rezidivierenden oder inoperablen Ovarialkarzinom zu eindrucksvollen Remissionen und zu einer deutlichen vorübergehenden Besserung des Allgemeinzustandes, bis ein plötzliches Aufschießen der Metastasen dem Leben der Betroffenen ein Ende setzt (42). Unter chemotherapeutischer Therapie ist somit eine Lebensverlängerung, aber keine Heilung möglich.

Die Prognose von Ovarialkarzinomen ist schlecht. Eine 5-Jahres-Überlebenszeit erreichen nur 20 - 35 % aller Erkrankten, aber 50 - 60 % derjenigen Patientinnen, bei denen das

karzinomatös veränderte Ovar ohne Eröffnung der Tumorkapsel operativ entfernt werden konnte (42).

Eine optimale individuelle Karzinomtherapie setzt auch eine Sensibilitätstestung gegen Zytostatika und möglichst eine Bestimmung der Zellzyklusdauer und damit der Zellkinetik voraus. Vor einiger Zeit konnten VOLM und Mitarbeiter (84) eine Methode ausarbeiten, die sich bei ausgedehnten Untersuchungen an Tiertumoren und ersten Untersuchungen am Ovarialkarzinom als überraschend gut erwiesen hat. Solche Untersuchungen und ihre Anwendung für die Therapie stehen heute noch am Anfang. Die ersten Erfahrungen und Ergebnisse lassen jedoch erwarten, daß durch eine derart intensive Diagnostik eine individuellere und effektivere Therapie möglich wird, die zu wesentlich besseren Ergebnissen führen wird (69).

3. VERSUCHSBESCHREIBUNG

3.1. UNTERSUCHTE GEWEBE

Die Gewebeproben entstammen Operationspräparaten der Universitätsfrauenklinik Homburg und gliedern sich folgendermaßen auf:

- 1784 Adenokarzinom des Ovars
- 1787 Carcinoma mammae solidum et cribrosum
- 1788 Papillär drüsiges Karzinom des Ovars
- 1801 Myxosarcoma mammae
- 1803 Carcinoma ovarii adenomatosum partim solidum, partim cribrosum.
- 1805 Adenopapilläres, teils solides Ovarialkarzinom
- 1807 Carcinoma mammae scirrhosum, partim solidum

3.2. FALLBESCHREIBUNG

- 1784 77jährige Patientin: FA unauffällig;
EA: 1965 Radiomenolyse.
Gyn. A: Menarche mit 15 Jahren, Menopause mit 45 Jahren; Partus 1918 und 1922, ohne Komplikationen.
J.A.: Vor ca. 5 Wochen seien plötzlich Unterleibsblutungen aufgetreten. Tastbefund: Apfelgroßer, cystischer, derber Tumor im linken Unterbauch.
Therapie: abdominelle Totalexstirpation des Uterus und beider Adnexe. Netzresektion.
(Mai 1972, Frauenklinik Homburg).

OP-Bericht: Linkes Ovar enteneigroß, mit vielkammeriger, ca. 5 x 5 cm großer Cyste, mit dünner Stielverbindung zum Ovar. Ovar mit derben, höckerigen Knoten von Walnußgröße, der das typische Aussehen eines Ovarial-Carcinoms zeigt. Tube unauffällig. Rechtes Ovar normal groß, makroskopisch jedoch ebenfalls höckerig, wie von kleinen Metastasen befallen. Rechte Tube unauffällig. Histologie: Adenocarcinom des linken Ovars.

1788 Sojährrige Patientin; OP 1972 in einem Krankenhaus in Trier. Von dort wurde Gewebsmaterial zur weiteren Untersuchung an die Universitätsfrauenklinik Homburg geschickt. Histologie: papillär-drüsiges Carcinom des Ovars.

1803 49jährrige Patientin; F.A. und E.A. unauffällig.
Gyn.A.: Menarche mit 17 Jahren; Cyclus alle 28 Tage, Dauer ca. 5 Tage. Eine regelrechte Geburt, ein Abortus 1953, mens. II. J.A.: Gewichtsabnahme seit einigen Monaten, Zunahme des Bauchumfangs, Inappetenz. Tastbefund: ca. 15 cm im Durchmesser großer Unterbauchtumor; wenig verschieblich. Explorativ-Laparoskopie. OP (Juni 1972, Homburg): Abdominelle Totalexstirpation des Uterus und beider Anhängel und Netzresektion.

OP-Bericht: Es findet sich ein ca. 15 cm großer, der rechten Beckenwand aufsitzender, teils cystischer, teils solider, mit einzelnen papillären Auflagerungen versehener, wenig verschieblicher Tumor.

Histologie: Carcinoma ovarii adenomatosum partim solidum, partim cribrosum, z.T. undifferenziert.

Nachbehandlung: Bestrahlung mit 6000 R Telekobalt und zytostatisch mit Endoxan und Proresid.

Rezidivfrei bis heute.

1805 68jährige Patientin; E.A. und F.A. unauffällig. Gyn.A.: Menarche mit 17 Jahren, Menopause mit 43 Jahren. Cyclus regelmäßig, Partus: 7, Abortus: 1, Curettage 1952.

Tastbefund: Portio geht in einen großen, derben, fast bis zum Nabel reichenden Unterbauchtumor über, der eine derbe Konsistenz und eine höckerige Oberfläche aufweist. Parametrien beidseits frei. Cysto- und Rectozele.

Laparoskopie (12.3.71): apfelgroßer, bräunlich, schaumiger Tumor mit massiven Adhäsionen im Unterbauch. Ursprungsort nicht zu bestimmen. Mit Hilfe einer Knipszange werden mehrere Gewebstücke zwecks histologischer Untersuchungen entnommen.

Im gesamten Bauchraum findet sich mäßig blutiger Ascites.

Histologie: Teils adenopapilläre, teils solide Carcinomwucherungen. Ovarial-Ca., genauere Differenzierung nicht möglich. Peritonealcarcinose.

Therapie: Bestrahlung mit Telekobalt
6000 R. Zytostat V M 26 (Protophyllin-
säurederivat der Fa. Sandoz).

Die Patientin verstirbt 524 Tage nach
dem laparoskopischen Eingriff unter den
Zeichen der Kachexie und eines starken
Ascites an Herz-Kreislauf-Versagen. Sie
wurde bis zum Tode zytostatisch weiterbe-
handelt.

1787 70jährige Patientin.

F.A.: Mutter mit 65 Jahren an Brustkrebs
gestorben.

E.A.: insgesamt unauffällig.

Gyn.A.: Menarche mit 14 Jahren, Partus:
2 spontan, Abortus: kein, Menopause mit
50 Jahren, seitdem keine Blutungen,
1967 Kolpoplekisis, danach beschwerdefrei.

J.A.: 14 Tage vor der Konsultation be-
merkte die Patientin eine Blutung aus der
linken Brust. Keine Schmerzen. Tastbefund:
hühnereigroßer, derber Tumor in beiden
oberen Quadranten der linken Brust, auf
der Unterlage gut verschieblich. Die
Mammographie ergab den Verdacht auf ein
Mamma-NPL im medialen oberen Quadranten
der linken Mamma.

Mai 1972 primäre Ablatio mammae links,
Nachbestrahlung mit Telekobalt im Juni 1972.

1801 44jährige Patientin.

F.A. und E.A. unauffällig.

Gyn.A.: Menarche mit 14 Jahren, Zyklus regelmäßig, 2 Partus, gestillt.

J.A.: Seit 3 Monaten Knoten in der rechten Brust bemerkt. Juni 1972 Ablatio mammae unter Mitnahme des Musculus pectoralis maior und minor und Ausräumung der Axilla.

Histologisch Myxosarcoma mammae.

Nachbestrahlung mit Telekobalt, keine Zytostatika.

Patientin lebt rezidivfrei.

1807 43jährige Patientin.

F.A. und E.A. unauffällig.

Gyn.A.: Menarche mit 14 Jahren, Zyklus 26 - 28/ 4 - 5, LP: 4.6.1972, kein partus, kein abortus, Patientin ist unverheiratet.

J.A.: Vor 2 Monaten Knoten in der linken Brust bemerkt. Seit 4 Wochen vergrößerter, schmerzloser Knoten in der linken Achselhöhle bekannt.

Befund: Frauenfaustgroßer Tumor, auf der Unterlage verschieblich, lateral oben in der linken Mamma. Verhärteter, schmerzloser Achsel-LK links. Rechts walnußgroßer Mammatumor, Achselhöhle frei.

Juli 1972 Mamma-Ablatio links, unter Mitnahme d.M. pectoralis maior, Achselfettgewebe und Achsel-LK. Mamma-Tumor-Exstirpation rechts.

Dg: Mamma-Carcinom links, Steinthal III.

Mamma-Tu rechts.

Zytostatische Therapie mit Proresid.

3.3. AUFARBEITUNG

Die Aufarbeitung und Kultivierung der Gewebe erfolgte nach dem Verfahren von DULBECCO und VOGT (22) in der Modifikation nach LIMBURG und KRAHE (48).

Arbeitsgang:

Das zur Kultivierung steril entnommene Gewebe wurde sofort in Phosphatpuffer mit Antibiotikazusatz aufgenommen. Blut und nekrotische Teile wurden entfernt und ein Gewebsanteil wurde zur histologischen Untersuchung entnommen.

Anschließend erfolgte die mechanische Zerkleinerung mit einer Schere bis zu einem Gewebsbrei und die fermentative Aufspaltung der Gewebsteile bei 37° C durch eine 0,2 - 0,25 %ige Trypsinlösung unter ständigem Rühren mit Hilfe eines Magnetrührers. Die gelösten Einzelzellen wurden in einen zweiten sterilen Kolben gegossen und die Trypsinisierung mit Hilfe eines Eisbades von 4° C abgestoppt. Dies wurde mehrmals wiederholt, bis keine soliden Gewebefragmente mehr vorhanden waren. Nach Abschluß der Trypsinisierung wurde die Zellsuspension durch eine Mullage filtriert. Nach mehrmaligem Zentrifugieren bei 800 - 1000 Upm erfolgte die Resuspension in Phosphatpuffer zur Entfernung des Trypsin. Das Zellsediment wurde in Nährmedium TCM 199 (Fa. Flow Laboratories) aufgenommen. Danach wurden Portionen zu 1 ml, die je $4 - 6 \times 10^6$ lebende Zellen enthielten, in Zuchttröhrchen explantiert. Die Proben wurden bei 37° C inkubiert, bis nach 3 - 5 Tagen ein flächenhafter Zellrasen gewachsen war.

Nun wurden die folgenden Verbindungen in 0,01 ml Triolein oder Propylenglycol zugefügt und gegen Kontrollen aus reinem Lösungsmittel getestet.

- 2,88 µg 7α - ^3H -DHEA (2 404 000 cpm ^3H)
- 9,15 µg 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid (11 020 cpm ^3H)
- 5,47 µg 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat (36 200 cpm ^3H)

Nach 24 Stunden Inkubationszeit bei 37° C wurden die Zellkulturen nach den Kriterien der CTOC (Cell tissue and organ culturing study group), einer Untergruppe der UICC (Union International contre le Cancer) morphologisch begutachtet.

- + Sichtbare Veränderungen des Zytoplasmas und Zellkernes, wie Vakuolen, Kern- und Plasmaverklumpung.
- + (+) Wenige Zellnekrosen, daher aufgelockerter Zellrasen. Restliche Zellen zum Teil intakt, zum Teil Vakuolen, Kern- und Plasmaverklumpung.
- ++ Gehäufte Detritus, nur noch wenige intakte Zellen.
- +++ Völlige Auflösung der Zellen.

Danach wurden die Zellen in wenig H_2O aufgeschwemmt und mit Äther versetzt, um die lipidlöslichen freien Steroide herauszulösen.

Isolierung freier Steroide

Nach dreimaligem Ausschütteln mit je 2 Vol. Äther war die Gesamtmenge an freien Steroiden extrahiert. Zur Entfernung der Östrogene wurden die Ätherextrakte mit 10 ml 1-n NaOH und anschließend mit Wasser zu neutraler Reaktion gewaschen. Der die gesamten freien neutralen Steroide enthaltende Ätherextrakt wurde eingedampft zur Trockne.

Ein Aliquot wurde zur Radioaktivitätsmessung entnommen.

Isolierung der Steroidkonjugate

Die mit Äther präextrahierten Proben wurden anschließend enteweißt. Dazu wurden sie mit 4 Vol. Aceton versetzt, 60 Minuten bei 37° C inkubiert, danach zentrifugiert und der Überstand dekantiert.

Das Dekantat wurde mit 8 Vol. Diisopropyläther sowie 2 Vol. Butanol (bezogen auf das Ausgangsvolumen der Probe) verdünnt und mit ausreichend wasserfreiem Natriumsulfat versetzt und weiterhin 60 Minuten bei 37° C inkubiert. Danach wurde die Lösung filtriert und der Filtrerrückstand mit genügend Diisopropyläther-Butanol (4:1, v/v) gewaschen. Das entwässerte Filtrat wurde im Rotationsverdampfer bei maximal 37° C eingedampft. Die Trennung der Steroidkonjugate in Sulfatide oder verwandte lipophile Sulfokonjugate und Steroidsulfate wurde erreicht durch Säulenchromatographie auf Polyamid.

Arbeitsgang:

Der Trockenrückstand des Plasmaextraktes wurde mit wenig Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1, v/v) quantitativ auf die im gleichen Lösungsgemisch zubereitete Säule mit Polyamid-SC-6 (Machery, Nagel u. Co, Düren) überführt und mit 50 ml Cyclohexan-diisopropyl-äther (1:1, v/v), danach mit 25 ml Methanol und zuletzt mit 25 ml Methanol-Salzsäure (99:1, v/v) eluiert. Die Steroidsulfatide befanden sich in den beiden ersten Eluat, die Steroidsulfate im letzten Eluat. Die jeweiligen Eluate wurden zur Trockne eingedampft. Je ein Aliquot wurde der Radioaktivitätsmessung zugeführt.

Spaltung der Steroidkonjugate

Steroidsulfate und Steroidsulfatide wurden nun der Solvolyse in Äther-Perchlorsäure unterworfen. Der Trockenrückstand wurde mit 30 ml Äther-Perchlorsäure (100:1, v/v) aufgenommen und die Lösung 24 Stunden bei 37° C in verschlossenen Gläsern inkubiert.

Anschließend wurde die Ätherphase mit 10 ml Wasser zur Entfernung der Perchlorsäure und mit 1 ml 1n-Natronlauge zur Extraktion der phenolischen Steroide gewaschen. Danach wurde die Ätherlösung, die nun nur noch neutrale Steroide enthielt, noch dreimal mit Wasser bis zu neutraler Reaktion gewaschen und anschließend zur Trockne gebracht.

Isolierung neutraler Steroide

Die Isolierung der neutralen Steroide aus den Fraktionen der freien Steroide, Steroid-sulfatide und Steroidsulfate erfolgte mittels mehrmaliger aufsteigender Dünnschichtchromatographie in verschiedenen Systemen.

A) Abtrennung der nicht ketonischen Steroide

Der Rückstand der jeweiligen Fraktion wurde mittels wenig Chloroform-Methanol (1:1, v/v) quantitativ auf Kieselgelfertigplatten (F₂₅₄, E. Merck, Schichtdicke 0,25 mm) überführt und mit den entsprechenden Standardsteroiden zu beiden Seiten im System Chloroform-Dioxan (94:6, v/v) aufsteigend chromatographiert, um eine Abtrennung der nicht ketonischen Steroide zu erreichen. Durch Anfärben der Standards mit konzentrierter Schwefelsäure konnte man die Zonen von Androstendiol markieren. Diese Fraktion wurde mit Chloroform-Methanol (9:1, v/v) eluiert, zur Trockne gebracht und zur völligen Reinigung noch zweimal der aufsteigenden Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel (F₂₅₄, E. Merck, Schichtdicke 0,25 mm) im System Chloroform-Äthanol (9:1, v/v) unterworfen. Eluiert wurde mit Methanol sowie mit Methanol-Methylenchlorid (9:1, v/v). Die gewünschten Zonen konnten wiederum durch Anfärben der Standards mit konz. Schwefelsäure festgelegt werden.

Die gereinigten Proben wurden zur Trockne gebracht, halbiert und die Hälften jeweils der Radioaktivitätsmessung und Photometrie zugeführt.

B) Auftrennung der ketonischen Steroide

Die bei der ersten Chromatographie übrig gebliebenen ketonischen Steroide wurden mit Chloroform-Methanol (9:1, v/v) sowie Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v) eluiert. Zur Entfernung des Kieselgels wurden sie jeweils mit 20 ml Äthylacetat, 1 Tropfen Eisessig und 10 ml Wasser ausgeschüttelt.

Nach mehrmaligem Waschen mit Wasser wurden die Proben zur Trockne eingedampft.

Mittels der Farbreaktion nach TREIBER, RINDT und OERTEL (81, 82, 83) mit 2,4 Dinitrophenylhydrazin wurden die Oxosteroide folgendermaßen in Dinitrophenylhydrazone umgewandelt:

Je 0,2 ml 0,2 % DNPH-Reagenz wurde zu den Proben gegeben und zur Trockne eingedampft. Danach wurde der Trockenrückstand in 0,2 ml 0,03 %iger Trichloressigsäure in absolutem Benzol gelöst, 30 Minuten bei 37° C inkubiert und anschließend zur Trockne gebracht. Der in wenig Chloroform gelöste Trockenrückstand wurde sofort auf Kieselgelplatten (F₂₅₄, E. Merck) überführt und mit je 10 µg des jeweiligen 2,4 Dinitrophenylhydrazons als Standard zu beiden Seiten aufsteigend im System Chloroform-Dioxan (94:6, v/v) chromatographiert, um die Trennung der Derivate von DHEA und Androstendion zu erreichen.

Nach Festlegen der Androstendion-Bande durch Sichtbarmachen der jeweiligen Standards im UV-Licht erfolgte die Elution mit Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v). Die eingedampften Trockenrückstände der Proben wurden

nun zur endgültigen Reinigung zweimaliger Chromatographie auf Polyamid unterzogen. Sie wurden dazu mit wenig Chloroform auf Polyamid-Fertigplatten (Schleicher & Schüll) überführt, mit den entsprechenden Standardderivaten zu beiden Seiten der jeweiligen Probe im System Chloroform-Trichloräthylen-Wasser (64:20:16, v:v:v) aufsteigend chromatographiert, mit Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v) eluiert und anschließend zur Trockne gebracht. Der gesamte Vorgang wurde wiederholt und die Trockenrückstände der Eluate der Photometrie im Beckman-Spektralphotometer DK 2 unterworfen und anschließend ihre Radioaktivität gemessen. Die verbliebenen Dehydroepiandrosteron-Bande konnten aufgrund der farbigen Teste sofort festgelegt und mit Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v) eluiert werden. Nach Eindampfen zur Trockne wurden die Rückstände noch einmal mittels Chromatographie auf Kieselgelplatten (F₂₅₄, E. Merck) im System Chloroform-Dioxan (94:6, v/v) gereinigt. Die Elution erfolgte wiederum mit Methylenchlorid-Methanol (9:1, v/v). Zur quantitativen Bestimmung der einzelnen Derivate wurden die Trockenrückstände der Eluate nun ebenfalls der Photometrie im Spektralphotometer sowie anschließend der ³H-Aktivitätsmessung zugeführt.

Photometrie

Zur quantitativen Messung der Steroid-2,4-dinitrophenylhydrazone wurden die Trockenrückstände der einzelnen Proben in 3,0 ml Chloroform aufgenommen.

Die Derivate von DHEA wurden im Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 330, 362 und 394 nm, Androstendion dagegen bei 340, 372 und 404 nm photometriert.

Nach Korrektur der maximalen Absorption von DHEA-2,4-dinitrophenylhydrazon gemäß der Formel:

$$\text{Abs.}_{362} \text{ korr.} = 2 \times \text{Abs.}_{362} - (\text{Abs.}_{330} + \text{Abs.}_{394})$$

ließ sich die Konzentration errechnen, wobei die korrigierte Absorption von 0,033 jeweils 1,0 µg Dehydroepiandrosteron entsprach.

Für die Konzentration des Androstendion- bis -2,4-dinitrophenylhydrazons benutzte man die Formel:

$$\text{Abs.}_{372} \text{ korr.} = 2 \times \text{Abs.}_{372} - (\text{Abs.}_{340} + \text{Abs.}_{404}),$$

wobei 1,0 µg Androstendion als Derivat die korrigierte Absorption von 0,048 besaß.

Androstendiol wurde bei einer Wellenlänge von 403 nm gemessen. Dazu wurden die Trockenrückstände der Proben in konz. Schwefelsäure/Äthanol 2:1 (v/v) gelöst.

Zur Berechnung benutzten wir die Formel:

$$\text{Abs.}_{403} \text{ korr.} = 2 \times \text{Abs.}_{403} - (\text{Abs.}_{368} + \text{Abs.}_{418})$$

Radioaktivitätsmessung

Die Messung der Radioaktivität in den Trockenrückständen der verschiedenen Steroidfraktionen erfolgte unter Verwendung von 0,4 % 2,5-Diphenyloxazol (POP) und 0,01 % 1,4-bis-2-(4-methyl-5-phenyl-oxazolyl)-benzol (Dimethyl-POPOP, Packard Instruments Comp., La Grange, Ill., USA) in Methanol-Toluol (1:200, v/v), als Szintillationsflüssigkeit im Packard Tricarb Szintillationszähler vom Typ 314 EX-2.

Die Berechnung der Impulse von ^3H wurde nach OKITA et al. (68) vorgenommen.

4. ERGEBNISSE

Die Tabelle 1 zeigt die ^3H -Aktivität der freien Steroide sowie ihre Verteilung auf die Metaboliten DHEA, ANDROSTENDIOL und ANDROSTENDION.

Die letzte Rubrik bildet den Quotienten aus dem Verhältnis DHEA/ANDROSTENDIOL, über den später noch gesprochen wird.

Die Tabelle 2 zeigt die Anzahl der Impulse der ^3H -Aktivität, die in der Fraktion der Sulfokonjugate gefunden wurde, sowie die Verteilung auf die einzelnen Metaboliten DHEA, ANDROSTENDION und ANDROSTENDIOL. Sie repräsentiert außerdem den Quotienten D/A der sulfokonjugierten Steroide.

In Tabelle 3 werden die cytostatischen Effekte der Steroide und Steroidkonjugate im Zusammenhang mit dem Quotienten D/A dargestellt.

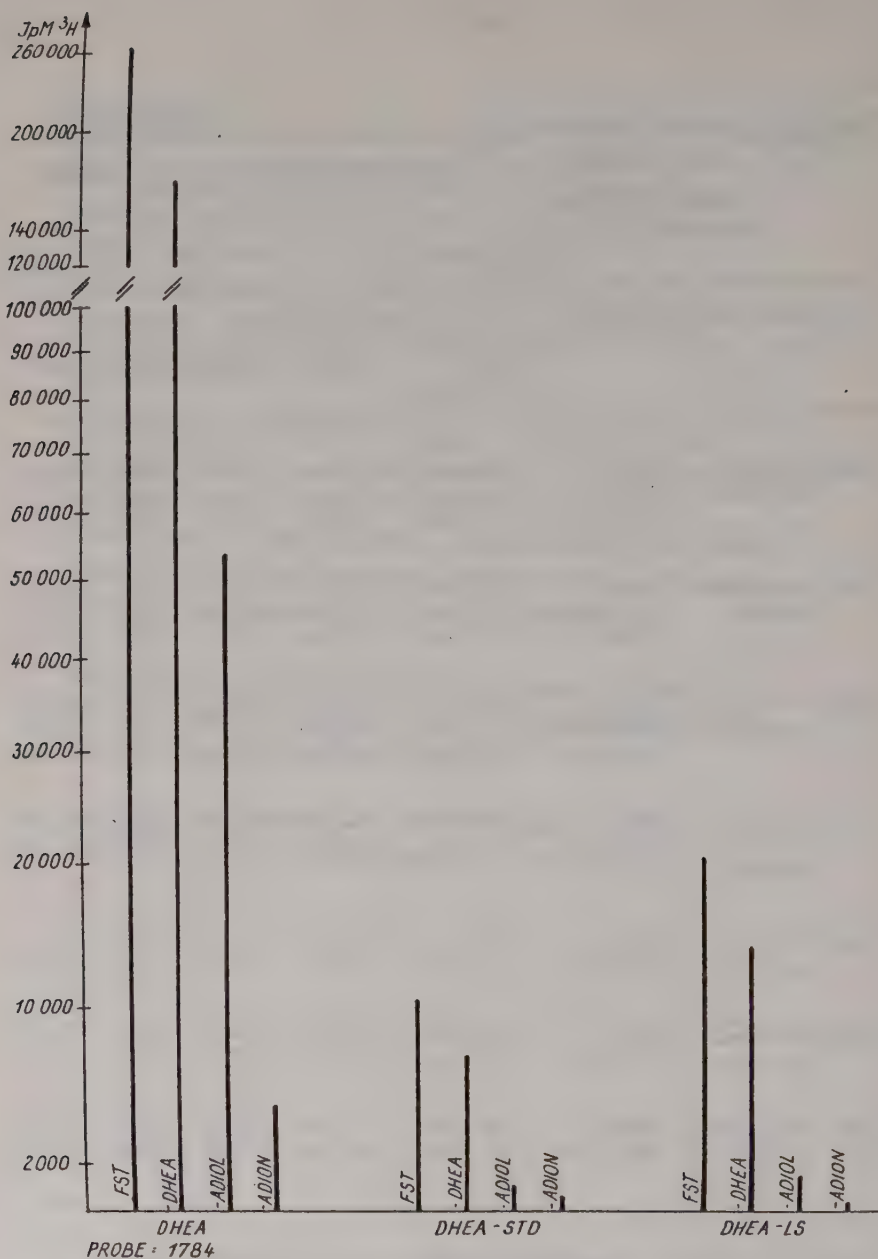
Tabelle 4 repräsentiert das Verhältnis der freien Steroide zu den sulfokonjugierten Steroiden.

5.

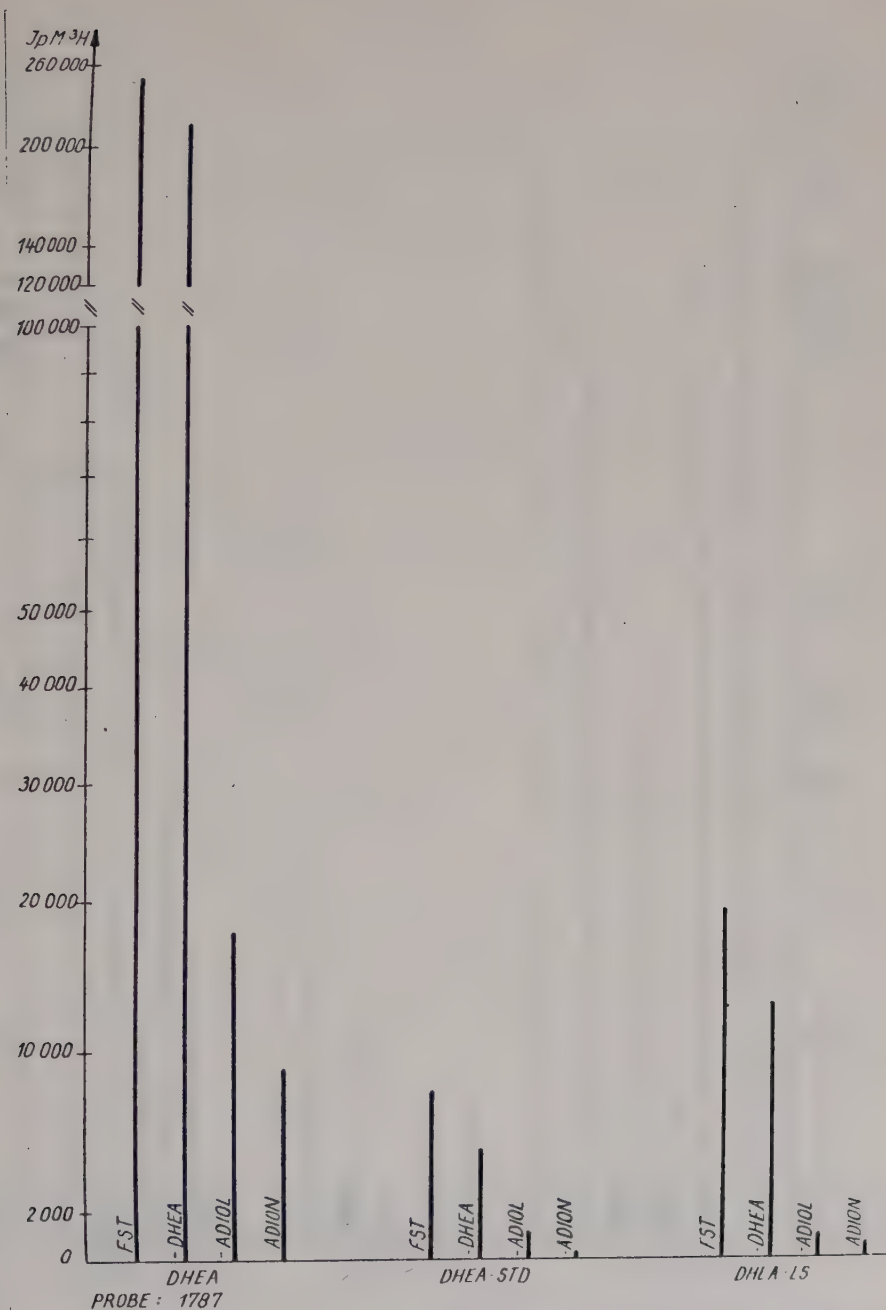
Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - 3 H-DHEA, 7α - 3 H-DHEA-Sulfatid oder 7α - 3 H-DHEA-Laurylsulfat.

No	Material	Substrat	IpM 3 H in				
			Freie Steroide	-DHEA	-ADIOL	-ADION	D/A
1784	Ovarial-carcinom	DHEA	267.000	164.000	53.700	4.780	3,05
		DHEA-STD	10.500	7.250	1.020	454	7,11
		DHEA-LS	20.200	13.900	1.310	212	10,61
1787	Carcinoma mammae	DHEA	252.000	216.000	17.600	8.940	12,27
		DHEA-STD	7.720	4.770	1.080	216	4,42
		DHEA-LS	19.700	12.900	981	641	13,15
1788	Ovarial-carcinom	DHEA	226.000	154.000	14.200	6.410	10,85
		DHEA-STD	7.210	5.110	982	66	5,20
		DHEA-LS	16.800	10.300	1.960	83	5,26
1801	Myxo-sarcoma mammae	DHEA	219.000	136.000	27.800	2.190	4,89
		DHEA-LS	15.600	10.100	1.760	128	5,74
1803	Ovarial-carcinom	DHEA	218.000	136.000	37.800	6.340	3,6
		DHEA-LS	17.200	12.500	1.590	986	7,86
1805	Ovarial-carcinom	DHEA	231.000	147.000	46.200	5.500	3,18
		DHEA-LS	22.500	13.400	3.610	442	3,71
1807	Carcinoma mammae	DHEA	246.000	172.000	29.200	1.870	5,89
		DHEA-LS	15.100	10.300	910	606	11,29

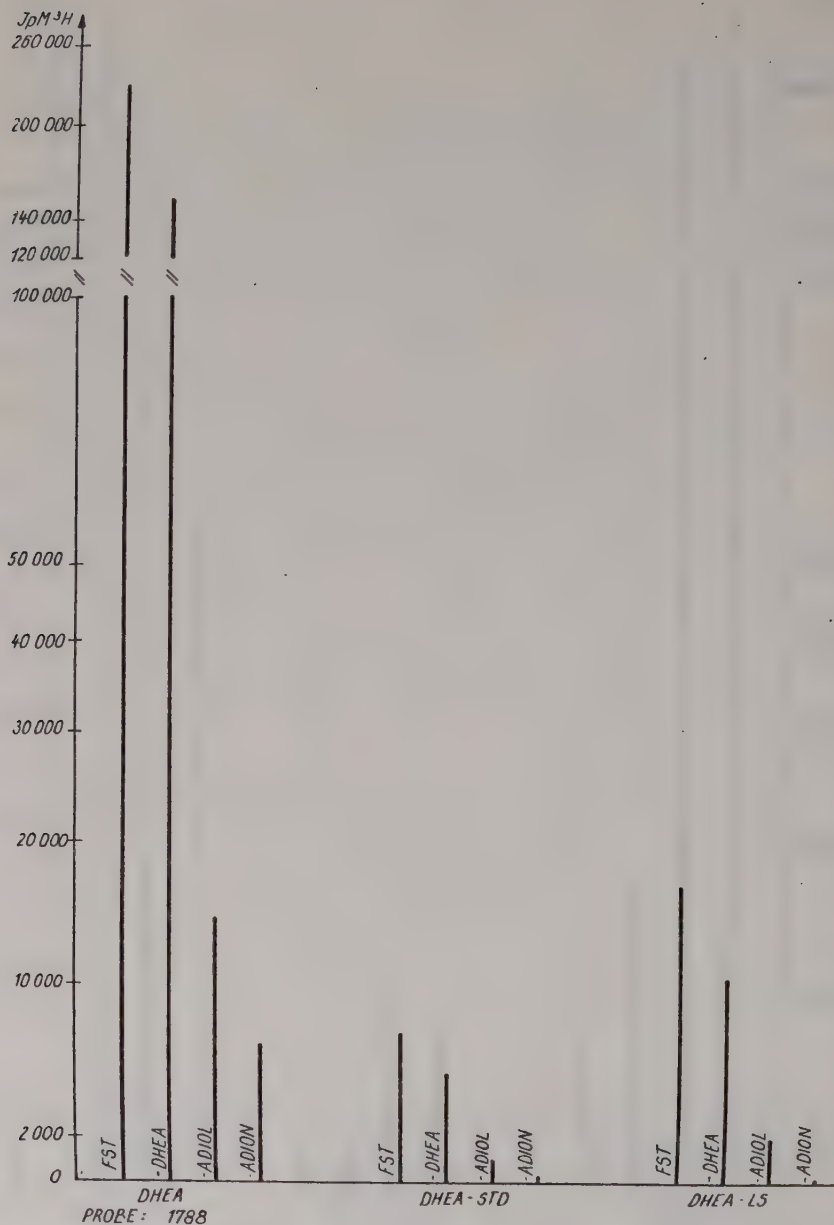
D/A = Verhältnis: DHEA/ANDROSTENDIOL in der Fraktion der freien Steroide.



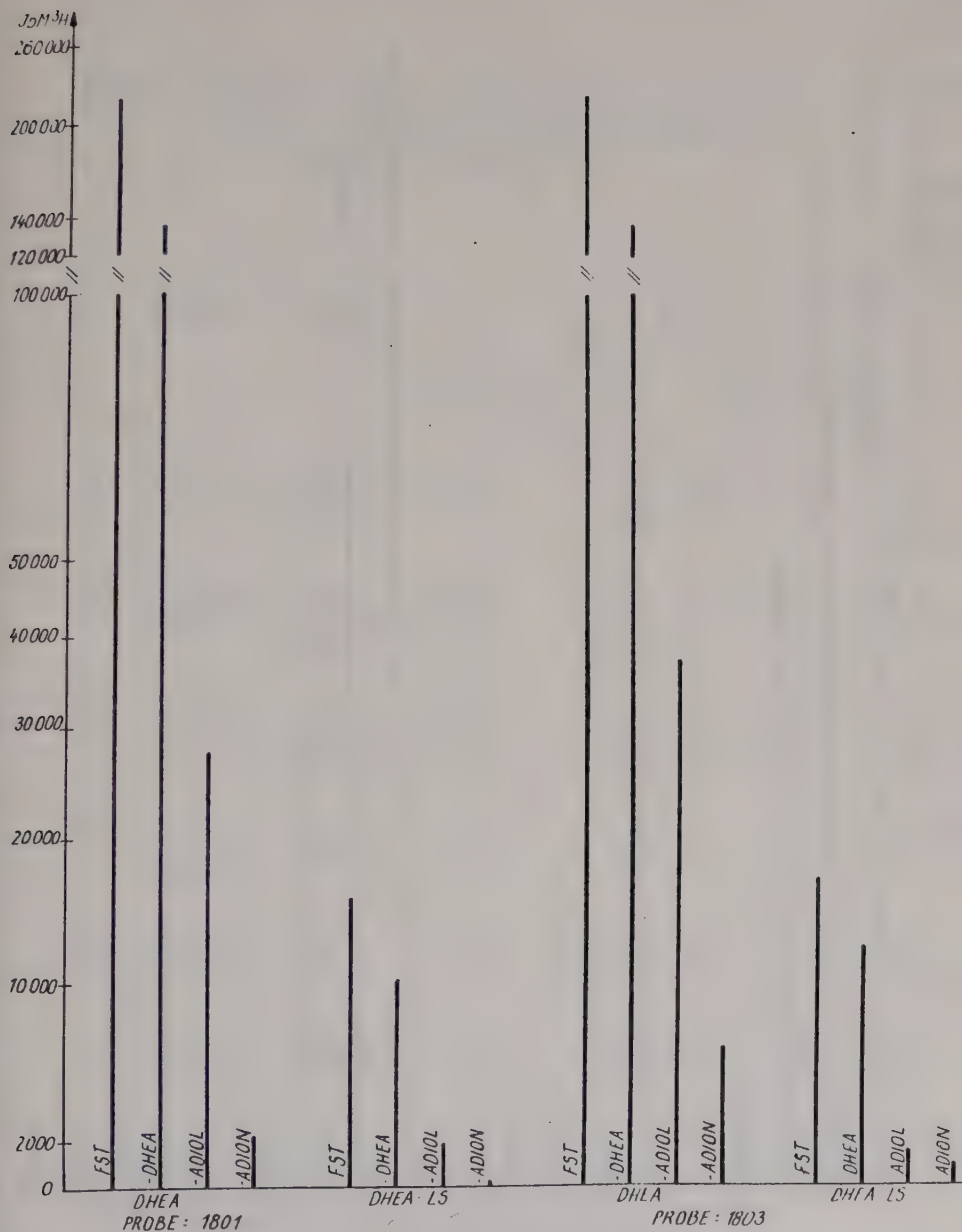
Ad Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation mit $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA}$, $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-Sulfatid}$ oder $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-Laurylsulfat}$



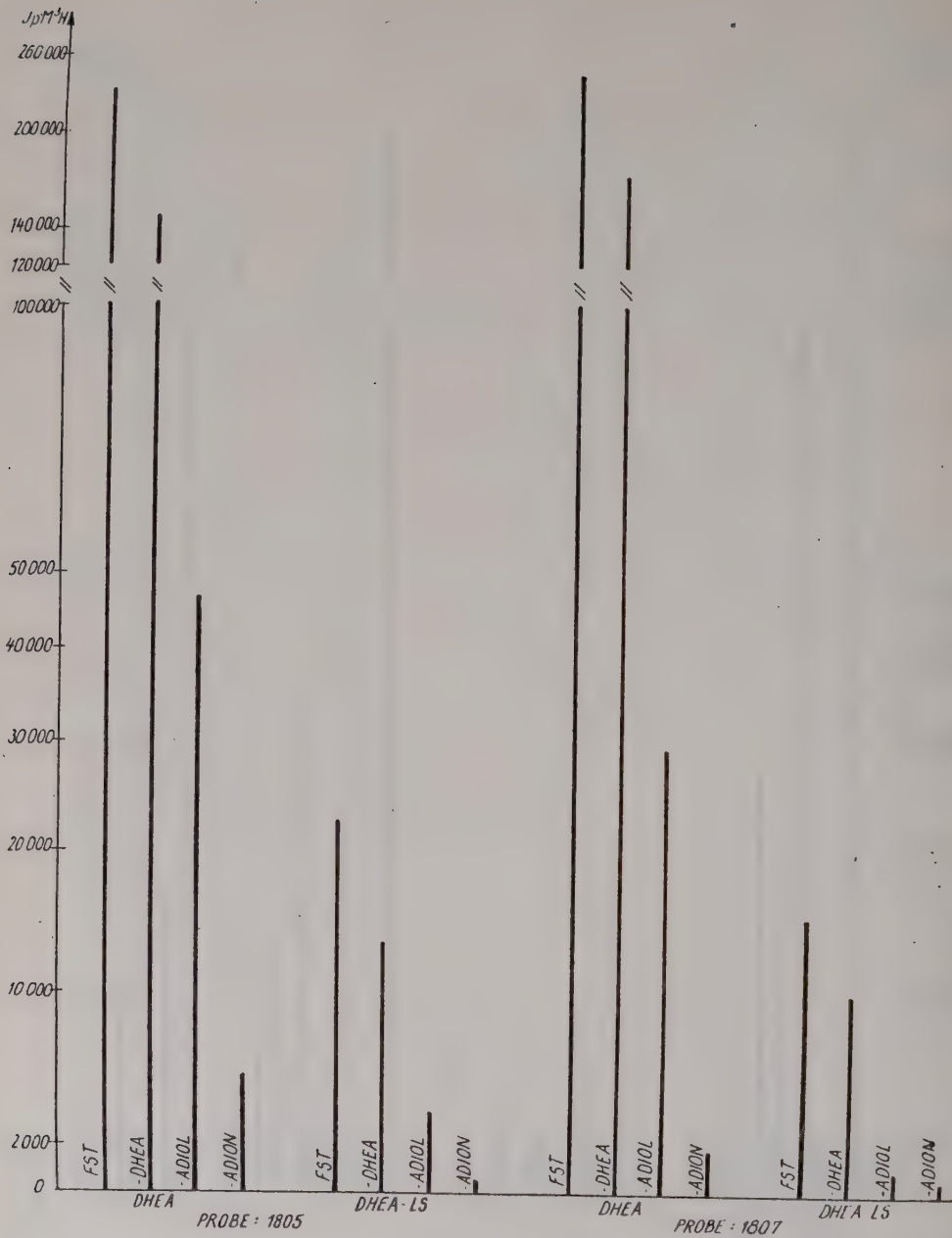
Ad Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat



Ad Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation mit $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA}$, $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-Sulfatid}$ oder $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-Laurylsulfat}$



Ad Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation mit $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA}$, $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-Sulfatid}$ oder $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-Laurylsulfat}$

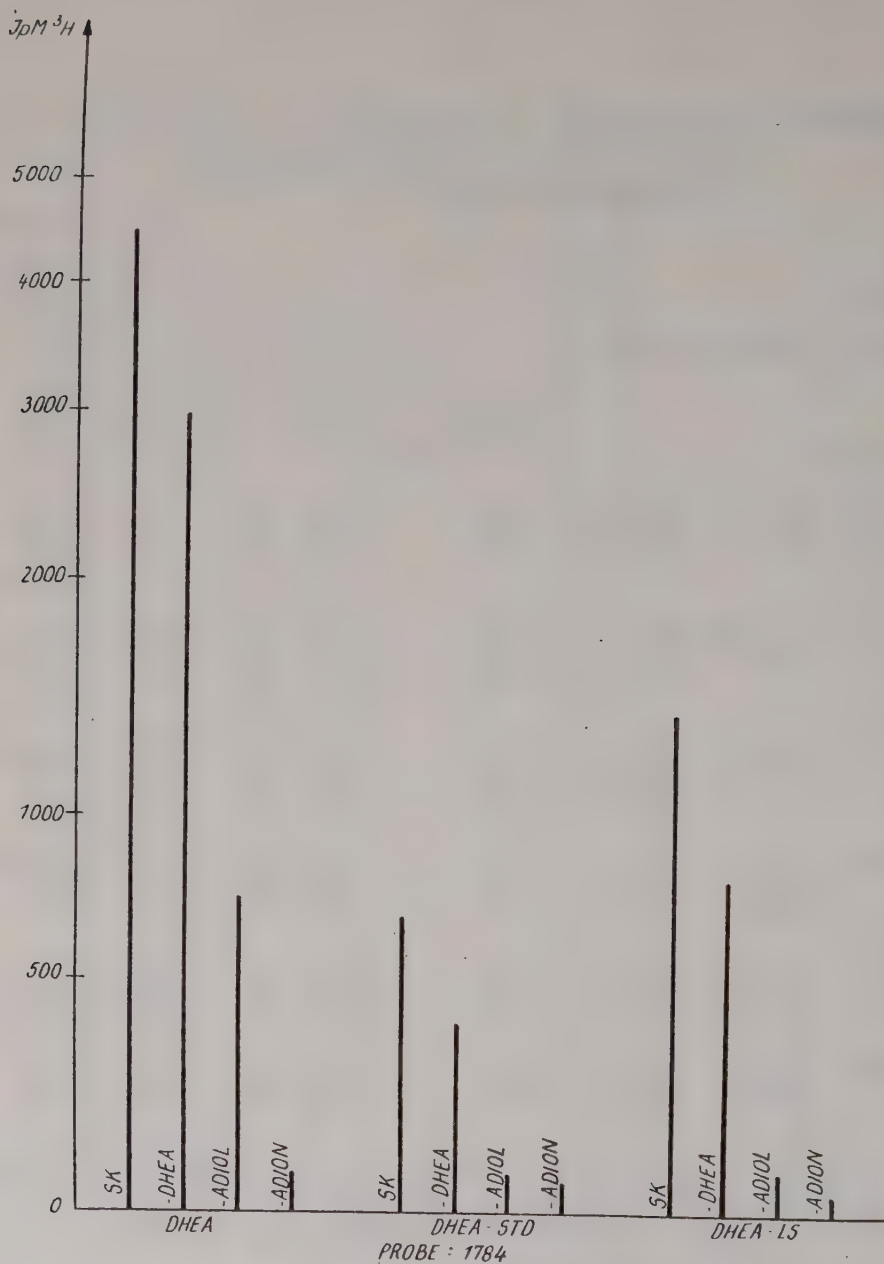


Ad Tabelle 1: Freie Steroide in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat

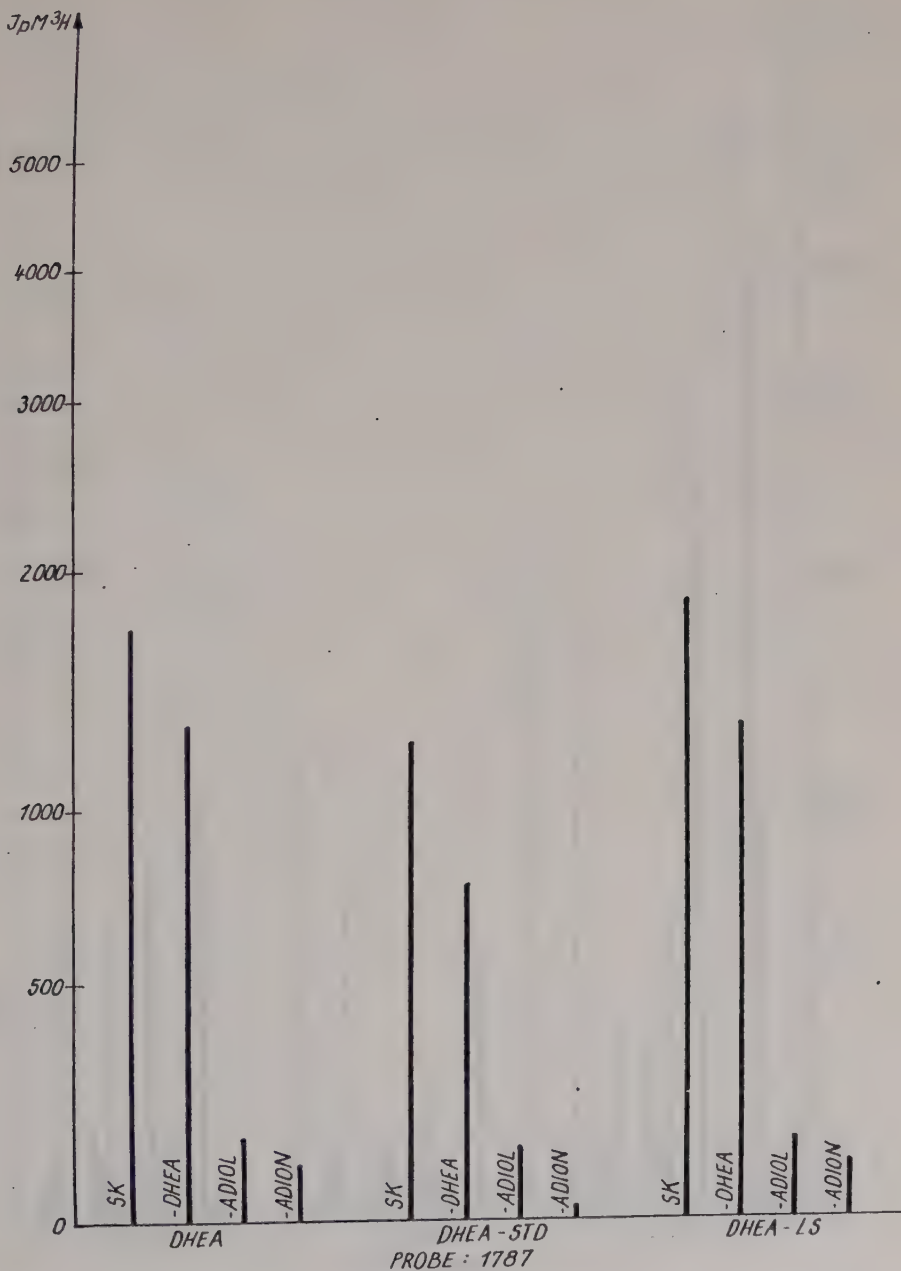
Tabelle 2: Sulfokonjugate in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat.

No	Material	Substrat	IpM ^3H in				
			Sulfo-konjugaten	-DHEA	-ADIOL	-ADION	D/A
1784	Ovarial-carcinom	DHEA	4.45o	2.97o	729	75	4,07
		DHEA-STD	673	388	64	54	6,06
		DHEA-LS	1.37o	784	75	36	10,45
1787	Carcinoma mammae	DHEA	1.71o	1.31o	151	101	8,68
		DHEA-STD	1.25o	764	139	41	5,5
		DHEA-LS	1.88o	1.34o	145	108	9,24
1788	Ovarial-carcinom	DHEA	5.61o	3.14o	35o	194	8,97
		DHEA-STD	588	294	58	32	5,07
		DHEA-LS	1.08o	894	163	45	5,48
18o1	Myxo-sarcoma mammae	DHEA	1.14o	821	2o6	47	3,99
		DHEA-LS	1.52o	932	146	23	6,38
18o3	Ovarial-carcinom	DHEA	3.17o	2.17o	48o	858	4,52
		DHEA-LS	1.27o	872	82	42	10,63
18o5	Ovarial-carcinom	DHEA	2.62o	1.39o	456	67	3,05
		DHEA-LS	1.31o	694	251	66	2,76

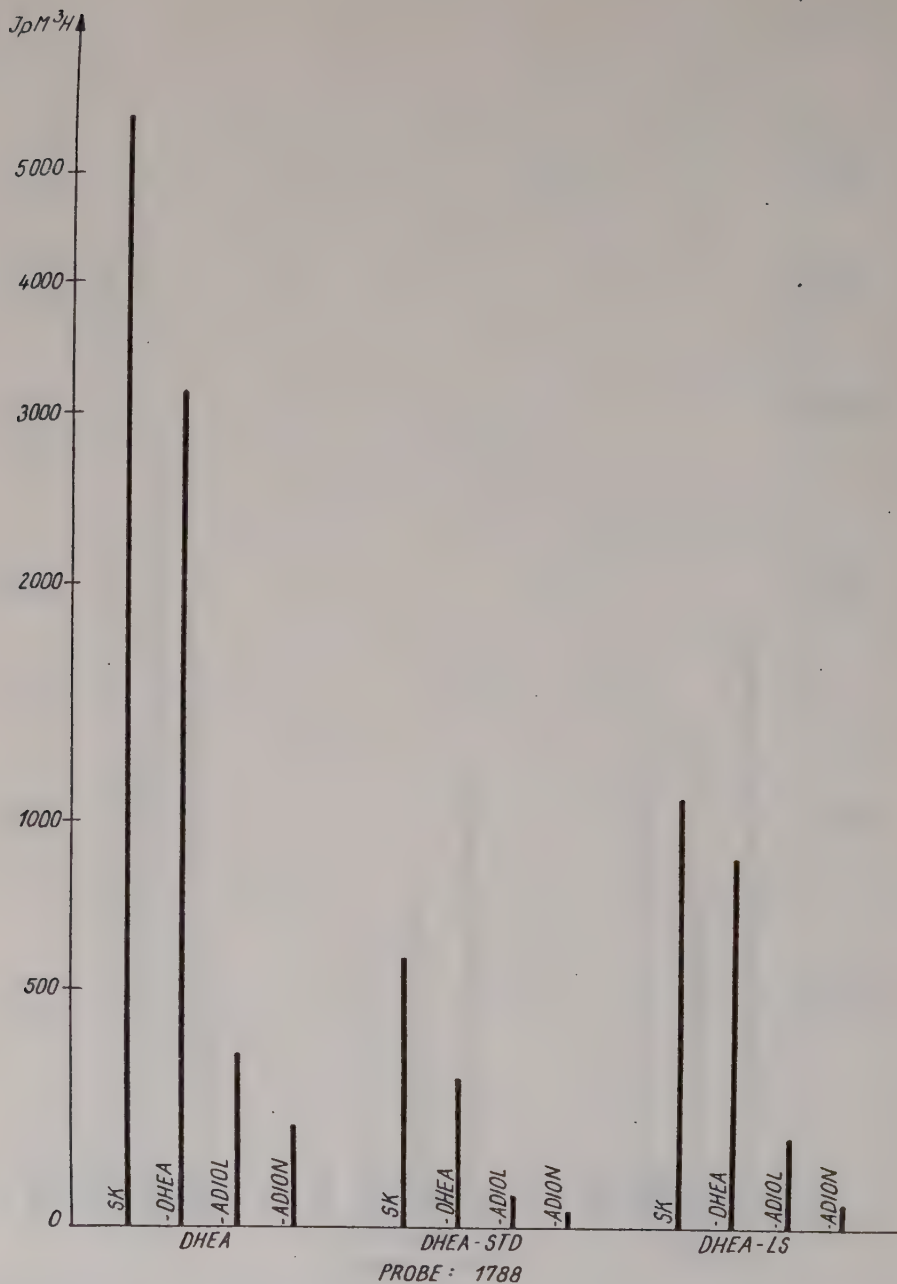
D/A = Verhältnis: DHEA/ANDROSTENDIOL in der Fraktion der sulfokonjugierten Steroide



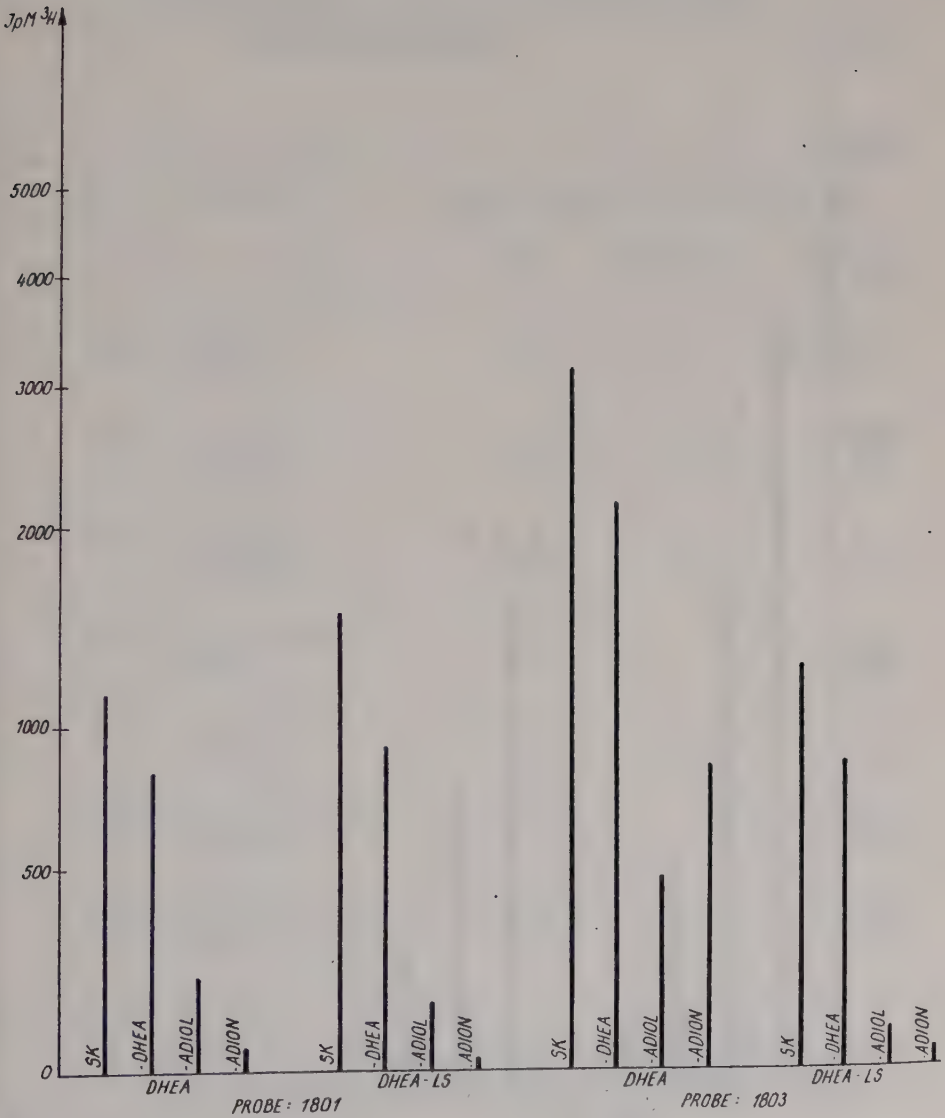
Ad Tabelle 2: Sulfokongjugate in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - 3H -DHEA, 7α - 3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - 3H -DHEA-Laurylsulfat



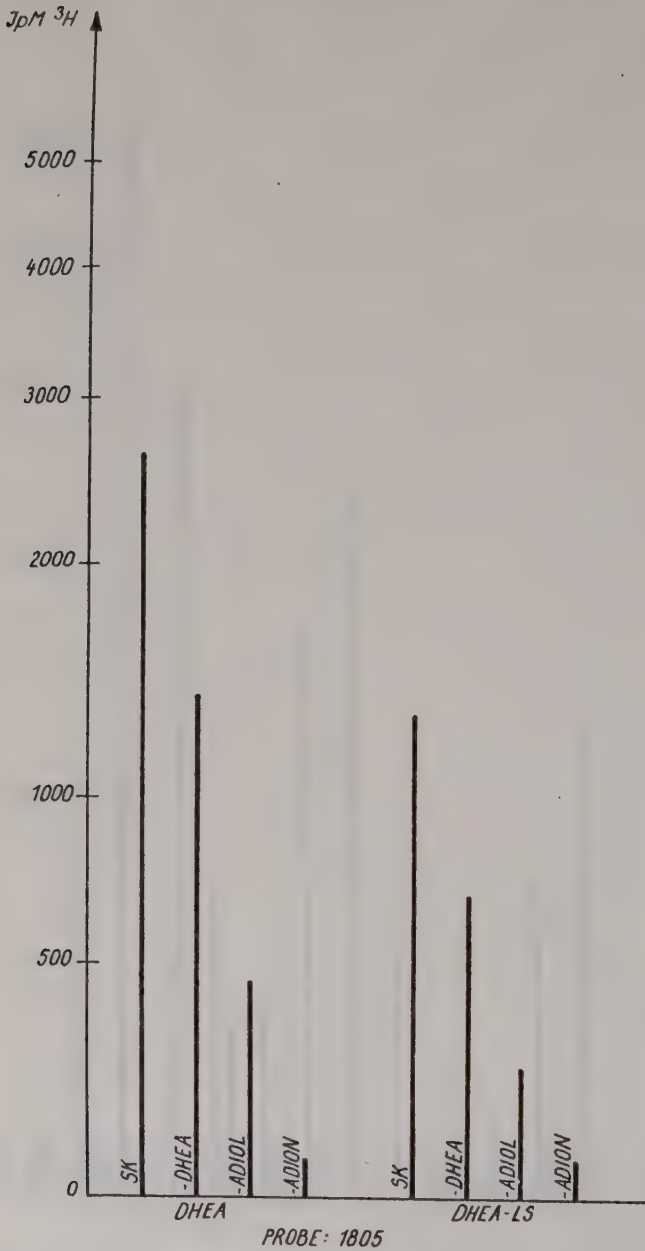
Ad Tabelle 2: Sulfokonjugate in Zellkulturen nach Inkubation mit $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA}$, $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-Sulfatid}$ oder $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-Laurylsulfat}$



Ad Tabelle 2: Sulfokongugate in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-Sulfatid oder 7α - ^3H -DHEA-Laurylsulfat



Ad Tabelle 2: Sulfokonjugate in Zellkulturen nach Inkubation mit 7α -³H-DHEA, 7α -³H-DHEA-Sulfatid oder 7α -³H-DHEA-Laurylsulfat



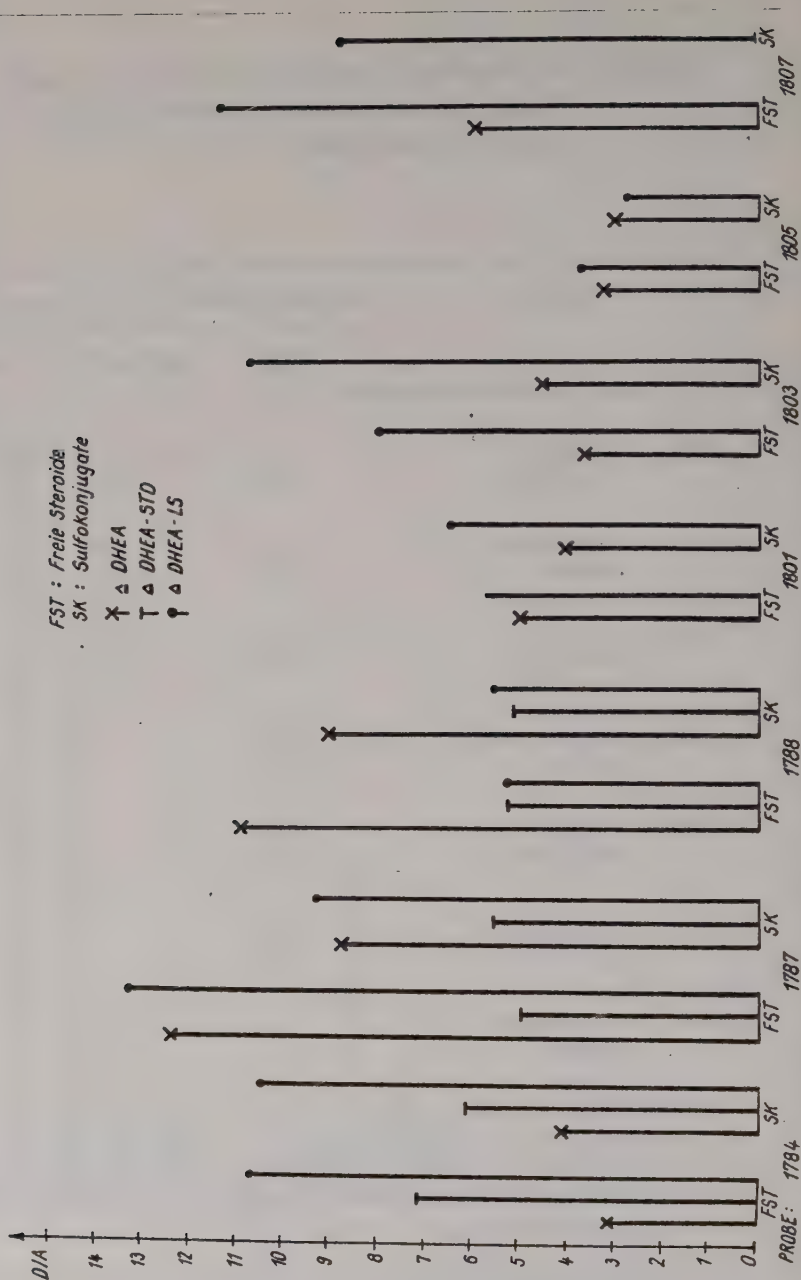
Ad Tabelle 2: Sulfokongjugate in Zellkulturen nach Inkubation mit $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA}$, $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA}\text{-Sulfatid}$ oder $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA}\text{-Laurylsulfat}$

Tabelle 3: Cytostatische Effekte von Steroiden und Steroidkonjugaten in Zellkulturen von menschlichem Gewebe

No	Material	Morphologische Untersuchung D/A		
		DHEA	DHEA-STD	DHEA-LS
1784	Ovarial-carcinom	3,1 4,07	(+) 7,1 6,1	+ (+) 10,6 10,4
1787	Carcinoma mammae	12,3 8,7	4,92 5,5	+ 13,2 9,2
1788	Ovarial-carcinom	(+) 10,8 8,97	5,2 5,1	5,2 5,5
1801	Myxosarcoma mammae	4,9 4,0		5,7 6,4
1803	Ovarial-carcinom	3,6 4,5		+ 7,9 10,6
1805	Ovarial-carcinom	3,2 3,0		3,7 2,76
1807	Carcinoma mammae	5,9		+ 11,3 8,8

D/A = Verhältnis von DHEA/ANDROSTENDIOL in der Fraktion von freien Steroiden (obere Werte) und Sulfokonjugaten (untere Werte).

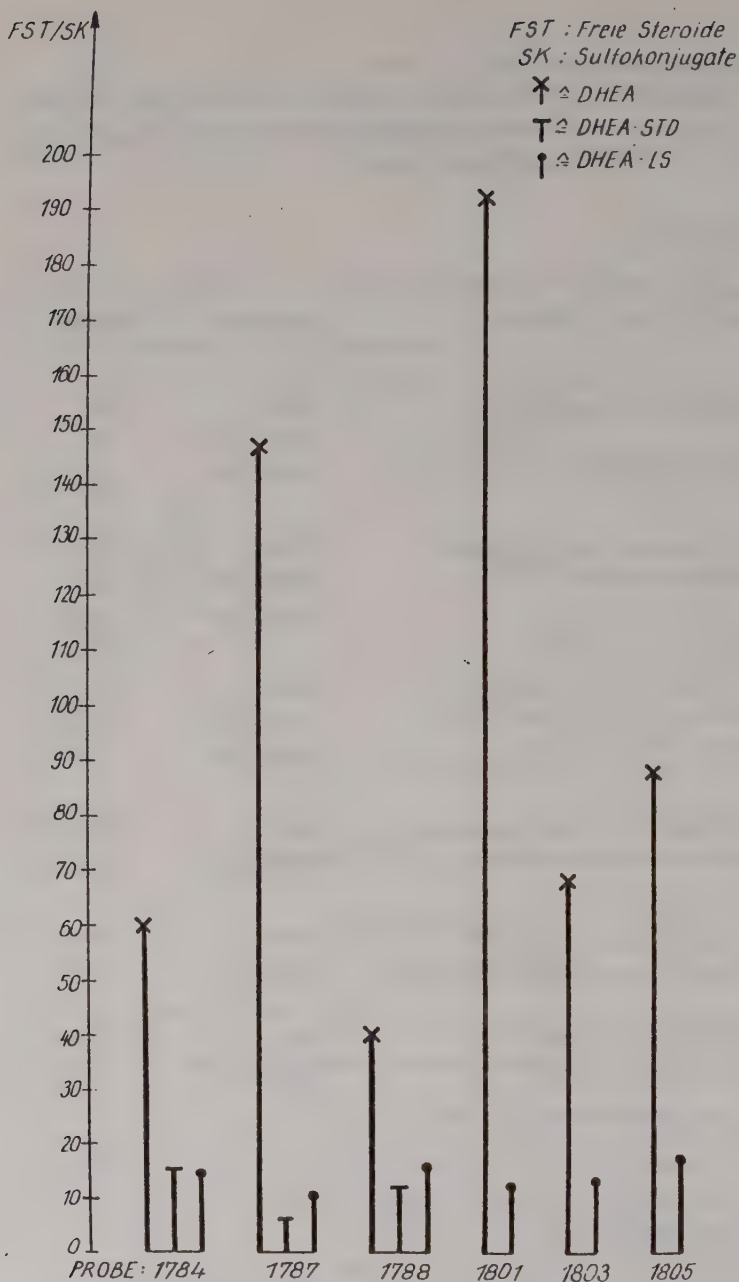
+ = beginnende Nekrose
 ++ = Nekrose in 50 %
 +++ = totale Nekrose



Ad Tabelle 3: Cytostatische Effekte von Steroiden und Steroid-konjugaten in Zellkulturen von menschlichen Geweben

Tabelle 4: Quotient aus dem Verhältnis der freien Steroide (FST) zu den sulfokonjugierten Steroiden (SK):

No	Material	Substrat	FST/SK
1784	Ovarial- carcinom	DHEA	60
		DHEA-STD	15,6
		DHEA-LS	14,74
1787	Carcinoma mammarum	DHEA	147,37
		DHEA-STD	6,18
		DHEA-LS	10,48
1788	Ovarial- carcinom	DHEA	40,29
		DHEA-STD	12,26
		DHEA-LS	15,55
1801	Myxosarcoma mammarum	DHEA	192,11
		DHEA-LS	10,26
1803	Ovarial- carcinom	DHEA	68,77
		DHEA-LS	13,54
1805	Ovarial- carcinom	DHEA	88,17
		DHEA-LS	17,18



Ad Tabelle 4: Quotient aus dem Verhältnis der freien Steroide (FST) zu den sulfokonjugierten Steroiden (SK)

6. DISKUSSION

Wie durch die Resultate von Tabelle 3 dargelegt, kann man vermuten, daß DHEA und seine Sulfokonjugate, namentlich DHEA-Sulfatid und DHEA-Laurylsulfat, eine unterschiedliche Inhibition des Zellwachstums in Kulturen von neoplastischem Gewebe verursachen, während in Zellkulturen von normalem menschlichem Gewebe nur geringe Effekte beobachtet worden waren (67). In den Experimenten mit den oben genannten Sulfokonjugaten entspricht die zugefügte Konzentration von 10^{-5} Mol den physiologischen Plasmawerten von sulfokonjugiertem DHEA (3). Wenn man die Verteilung von ^3H -markierten Verbindungen auf die Fraktionen von freien und konjugierten C_{19} -Steroiden in Tabelle 1 und 2 betrachtet, kann man feststellen, daß sie in allen Zellkulturen eine praktisch vollständige Hydrolyse während der Inkubation erfahren hatten. Offensichtlich enthielten alle Gewebekulturen eine hohe Sulfataseaktivität.

Auf der anderen Seite konnte Sulfokinaseaktivität durch die Versuche mit freiem DHEA als Substrat nachgewiesen werden. Der Hauptanteil der radioaktiven Impulse wurde in der Fraktion der freien Steroide gefunden, ein nicht unerheblicher Teil jedoch auch in der Fraktion der sulfokonjugierten Steroide, wie in Tabelle 2 zu sehen ist.

In Tabelle 4 wurde zur weiteren Verdeutlichung der Quotient aus dem Verhältnis der freien Steroide zu den sulfokonjugierten Steroiden gebildet und dargestellt. Hier konnte man weiter noch beobachten, daß in den Geweben 1788 und 1787 die Sulfatase bei DHEA-LS schneller gewirkt hatte als bei DHEA-Sulfatid.

Insgesamt läßt sich sagen, daß die Sulfataseaktivität in den verschiedenen Gewebekulturen größeren Variationen unterliegt. Auch erschienen beachtliche Unterschiede im Metabolismus des DHEA, gleich, ob es als freies Steroid oder in Form eines Sulfokonjugates zugefügt worden war.

Bei allen Substraten konnten wir, wie aus Tabelle 1 und 2 hervorgeht, den Einfluß der 17 β -Oxidoreduktase und der 3 β -Oxidoreduktase finden, d.h. wir konnten bei allen bebrüteten Geweben neben DHEA die Metaboliten Androstendion und Androstendiol nachweisen, und zwar nicht nur bei den freien Steroiden, sondern auch bei den sulfokonjugierten Steroiden.

In Tabelle 3 wurde der Quotient aus D/A (DHEA/ANDROSTENDIOL) sowohl für die freien als auch für die sulfokonjugierten Steroide in Zusammenhang mit der morphologischen Zellreaktion dargelegt. Dabei zeigte sich eine Korrelation zwischen der Höhe des D/A-Quotienten und Auftreten von Zellnekrosen.

Diese mögliche Relation gilt nach unseren Befunden sowohl für das Verhältnis D/A der freien Steroide als auch der sulfokonjugierten Steroide. Dabei war es gleichgültig, ob das bebrütende Agens DHEA, DHEA-Sulfatid oder DHEA-Laurylsulfat gewesen war. So sah man etwa im Gewebe 1784 nach Bebrütung mit DHEA-LS beginnende bis 50 %ige Nekrose bei einem D/A-Quotienten von 10,6 bei den freien Steroiden. Im Gewebe 1803 sah man nach Bebrütung mit DHEA-LS beginnende Nekrose bei einem Quotienten von D/A von 7,9 bei den freien Steroiden, in den Geweben 1787 bei einem Quotienten D/A von 13,2 und 1807 bei D/A = 11,3 ebenfalls beginnende Nekrose. Ähnliche Ergebnisse fand man nach Bebrütung mit DHEA-Sulfatid beispielsweise im Gewebe 1784, in dem bei einem Quotienten D/A von 7,1 bei den freien Steroiden eine beginnende Zellnekrose auftrat.

Diese Befunde unterstützen die Ergebnisse zahlreicher in-vitro-Versuche, die zeigen konnten, daß das DHEA mit einem K_i -Wert von 10^{-5} Mol, wie wir ihn verwendet haben, um mit den physiologischen Plasmawerten von sulfokonjugiertem DHEA zu korrelieren, als Inhibitor der Aktivität der G-6-PDH fungiert. Dabei ist es gleichgültig, ob das DHEA als freies Substrat zugeführt wurde oder unter dem Einfluß der Sulfataseaktivität aus Sulfat oder Sulfatid entstand.

Die G-6-PDH wiederum als Schlüsselenzym des Pentosephosphatzyklus bedient sich des NADPs als Coenzym zur Bereitstellung von reduziertem Wasserstoff, der zur Biosynthese von Nucleinsäuren und somit zur Zellreplikation benötigt wird. Eine Wirkung des Verhältnisses D/A auf die Aktivität der G-6-PDH kann angenommen werden. Je höher die Aktivität der G-6-PDH, um so mehr NADPH entsteht, was als Substrat der β -Oxidoreduktase zur Umwandlung von DHEA in Androstendiol führt. Das Androstendiol hingegen hat in in-vitro-Versuchen weder in seiner freien noch in seiner sulfokonjugierten Form zu nennenswerten Wirkungen auf die G-6-PDH-Aktivität geführt (5,6).

Ein kompliziertes Ineinandergreifen der angedeuteten Reaktionen scheint somit die Aktivität der G-6-PDH und zugleich den Stoffwechsel des als Inhibitor bekannten DHEAs und seiner Sulfokonjugate zu bestimmen.

Wie wir sahen, unterlag der Metabolismus von DHEA und seinen Sulfokonjugaten in individuellen Zellkulturen sichtbaren Variationen. Unter anderen Faktoren mag sich die Penetration von DHEA und seinem Sulfokonjugat durch die Zellmembran von Zelltyp zu Zelltyp unterscheiden und auf diese Weise den Metabolismus der zugefügten Verbindungen beeinflussen.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Zellkulturen, die aus Operationspräparaten menschlicher neoplastischer Gewebe gewonnen waren, wurden mit 7α - ^3H -Dehydroepiandrosteron, 7α - ^3H -Dehydroepiandrosteron-Sulfatid und 7α - ^3H -Dehydroepiandrosteron-Laurylsulfat in 10^{-5} molarer Konzentration bebrütet.

In allen bebrüteten Geweben konnten wir die Metaboliten des DHEA, ANDROSTENDIOL und ANDROSTENDION, nachweisen, d.h. sowohl Aktivität der $17\text{-}\beta$ -Oxidoreduktase als auch der $3\text{-}\beta$ -Oxidoreduktase war nachweisbar.

Weiterhin konnten wir in allen untersuchten Geweben Sulfatase- und Sulfokinaseaktivität finden, wobei die Aktivität der beiden Enzyme im Gleichgewicht zu stehen schien.

Das Verhältnis von DHEA zu ANDROSTENDIOL schien eine wichtige Rolle zu spielen, je höher der Quotient D/A, desto häufiger fanden wir bei der morphologischen Untersuchung der Zellkulturen Zellnekrosen bzw. Inhibition des Zellwachstums.

Als effektivste der getesteten Verbindungen in Bezug auf die Hemmung des Zellwachstums erwies sich DHEA-Laurylsulfat.

8. TRIVIALNAMEN UND CHEMISCHE BEZEICHNUNGEN DER
IN DIESER ARBEIT VORKOMMENDEN STEROIDE:

Androstendiol	5-Androsten-3- β ,17- β -diol
Androstendion	4-Androsten-3- β ,17- β -dion
DHEA	3- β -Hydroxy-5-androsten-17-on
Östradiol	1,3,5 (1 α)-Östrien-3,17- β -diol
Testosteron	17- β -Hydroxy-4-androsten-3-on

9. VERWENDETE ABKÜRZUNGEN:

Abs.	Absorption
Abs. 362 korr.	korrigierte Absorption bei der Wellenlänge von 362 nm
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Adiol	Androstendiol
Adion	Androstendion
cAMP	cyclisches 3'5'-Adenosinmonophosphat
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEA-STD	DHEA-Sulfatid
DHEA-LS	DHEA-Laurylsulfat
D/A	DHEA/Adiol
DNPH	Dinitrophenyl-2,4-Hydrazin
FSt.	freie Steroide
G-6-PDH	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
IpM	Impulse/min
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotid- phosphat
NADPH	reduzierte Form von NADP
NaOH	Natronlauge

10. LITERATURVERZEICHNIS

1. ARGUELLES, A.E., U.L. POGGI, C. SABORIDA,
C. HOFFMAN, M. CHEKHERDEMIAN and O. BLANCHARD:

Endocrine Profiles and Breast Cancer.

Lancet 1 (1973) 165-168

2. BACIGULUPO, G., und H. LINGK:

Die Urinausscheidungen von neutralen 17-Ketosteroiden,
Androsteron und Aetiocholanolon bei gesunden Frauen
und Frauen mit frühem und fortgeschrittenem Brust-
krebs.

Arch. Geschwulstforschung 32 (1968) 95

3. BAULIEU, E.E.:

Three sulfats esters of 17-ketosteroids in the plasma
of normal subjects and after administration of ACTH.

J. clin. Endocrin. Metab. (Springfield) 20 (1960)
900-904

4. BENARD, H., J.S. BOURDEN, R.T. SARACINO and
A. SEEMAN:

Etudes des 17 cétostéroïdes plasmatiques dans 51 cas
de cancer du sein.

Ann. Endocrin. (Paris) 23 (1962) 525

5. BENES, P., R. FREUND, P. MENZEL and G.W. OERTEL:

Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase by steroids II: Effects of 17-oxo-C₁₉-steroids upon human placental glucose-6-phosphate dehydrogenase.

J. Steroid. Biochem. 1 (1970) 287-290

6. BENES, P., and G. OERTEL:

Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase by steroids III: Effects of dehydroepiandrosterone, its conjugates and derivatives upon the activity of human placental glucose-6-phosphate dehydrogenase.

J. steroid. Biochem. 2 (1971) 289-292

7. BENES, P., R. FREUND, P. MENZEL, L. STARKA and G.W. OERTEL:

Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase by steroids I. Effects of 3 β -hydroxy- Δ -5-steroids of the C₁₉- and C₂₁-series upon human red blood cell glucose-6-phosphate dehydrogenase.

J. steroid. Biochem. 1 (1970) 287-290

8. BENES, P., R. SIMSONY and G.W. OERTEL:

Inhibition in glucose-6-phosphate dehydrogenase in intact human erythrocytes by dehydroepiandrosteron and its conjugates.

Steroidologia 2 (1971) 52-56

9. BRANDAU, H., und W. LUH:
Der Einfluß von Steroidhormonen auf die Glucose-oxidation.
Geburtshilfe Frauenheilkunde 28 (1968) 1074-1075

10. BRAUNSBURG., H., V.H.T. JAMES:
Prognostic significance of oestrogen uptake by human breastcancer tissue.
Lancet 1 (1973) 163-165

11. BRAUNSBURG, H., E. KILLEN and E. MELVILLE:
Studies on steroid sulphation and binding by human malignant tumours.
Europ. J. Cancer 10 (1974) 13-20

12. BROWNSEY, B., E.H.D. CAMERON, K. GRIFFITHS, E.N. GLEAVE, A.P.M. FORREST and H. CAMPBELL:
Plasma dehydroepiandrosteron sulphate levels in patients with benign and malign breast disease.
Europ. J. Cancer 8 (1972) 131-137

13. BUDDECKE , E.:
Grundriß der Biochemie.
Berlin, New York, Walter de Gruyter Verlag 1973,
3. Auflage

14. BULBROOK, R.D.:

Urinary androgen excretion and the etiology of breast cancer.

J. Natl. Cancer Inst. 46 (1972) 1039-1042

15. BULBROOK, R.D., J.L. HAYWARD and C.C. SPICER:

Relation between urinary androgen and corticoid excretion and subsequent breast cancer.

Lancet i (1971) 395

16. BULBROOK, R.D., J.L. HAYWARD, C.C. SPICER and B.S. THOMAS:

A comparison between urinary steroid excretion of normal women and women with advanced breast cancer.

Lancet ii (1962) 1235

17. BULBROOK, R.D., J.L. HAYWARD, C.C. SPICER and B.S. THOMAS:

Abnormal excretion of urinary steroids by women with early breast cancer.

Lancet ii (1962) 1238

18. BUTENANDT, A., und K. TSCHERNIG:

Über Androsteron, ein kristallisiertes männliches Sexualhormon. I. Isolierung und Reindarstellung aus Männerharn (Göttingen).

Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chemie 229 (1934) 167-184

19. DAEHNFELD, J.L., und M. SCHÖLEIN:

High affinity oestradiol receptors and the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and lactose synthetase in mammary carcinomata of postmenopausal women.

Br. J. Cancer 31 (1975) 424

20. DORFMAN, R.J., und F. UNGAR:

Metabolism of steroid hormones.

New York, London (1965) 414 f., 545, 559, 573, 603

21. DRUCKER, W.D., J.M. BLUMBERG, H.M. GANDY, R.R. DAVID and A.L. VERDE:

Biologic activity of dehydroepiandrosterone sulfate in man.

J. clin. Endocrin. Metab. 35 (1972) 48-54

22. DULBECCO, R., und M. VOGT:

Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses.

J. exp. Med. 99 (1954) 167-182

23. EIK-NES, K.B., G.W. OERTEL, R. NIEMER and F.H. THYLER:

Effects of human chorionic gonadotropin on plasma concentration of 17-hydroxy-corticosteroids, DHEA and Androsterone in man.

J. Clin Endocrin. Metab 19 (1959) 1405

24. ENGELSMAN, E., J.P. PERSIJN, C.B. KORSTEN and F.J. CLETON:
Oestrogen receptor in human breast cancer tissue and response to endocrine therapy.
Br. Med. J. ii (1973) 750
25. FEHERTY, P., G. FARRER-BROWN, A.E. KELLIE:
Oestradiol receptors in carcinoma and benign disease of the breast.
Br. J. Cancer 25 (1971) 697-710
26. GUTIERREZ, R.M., and R.J. WILLIAMS:
Excretion of ketosteroids and proneness to breast cancer.
Proc. Nat. Acad. Sci. 59 (1968) 938
27. HÄHNEL, R., E. TWADDLE, A.B. VIVIAN:
Estrogen receptors in human breast cancer:
II In vitro binding of estradiol by benign and malignant tumours.
Steroids 18 (1971) 681-708
28. HELLMAN, L., H.L. BRADLOW and B. ZUMOFF:
Decreased conversion of androgens to normal 17-keto-steroid metabolites as a result of treatment with o,p-DDD.
J. of Clin. Endocrin. Metab. 36 (1973) 801-803

29. HIGGINSON, J., and A.G. OETTLER:
Cancer incidence in the Bantu and Cape colored
races of South Africa.
J. Natl. Cancer Inst. 24 (1960) 589-731

30. HILF, R., J.L. WITTLIFF, W.D. RECTOR, E.D. SAVLOV,
T.C. HALL and R.A. ORLANDO:
Studies on certain cytoplasmic enzymes and specific
estrogen receptors in human breast cancer and in
nonmalignant diseases of the breast.
Cancer Res. 33 (1973) 2054-2062

31. HILL, P., E. WYNDER, P. HELLMAN, R. HICKMAN:
The relation of hormone discriminants in plasma
and breast cancer.
Ann. Clin. Lab. Sci. 4 (1974) 350-356

32. HOLZMANN, H.:
Biochemische Erythrozytenbefunde bei der Psoriasis
vulgaris.
Arch. Klin. Exp. Derm. 225 (1966) 231-258

33. HOLZMANN, H.:
Neues aus dem Gebiet der Psoriasisforschung.
Deutsch. Med. J. 23 (1972) 137-139

VIII

34. HOLZMANN, H., J. FRÄNZ, B. MORSCHES, G. W. OERTEL
und K.H. DEGENHARDT:

Zur Wirkung des Dehydroepiandrosterons auf die
Mitose in Lymphozytenkulturen.

Dtsch. Med. Wschr. 97 (1972) 1570-1571

35. HOLZMANN, H., J. FRÄNZ, G.W. OERTEL und
K.H. DEGENHARDT:

Einfluß des Dehydroepiandrosterons auf den
Mitosezyklus.

Arzneim. Forsch. 23 (1973) 271-274

36. HOLZMANN, H., B. MORSCHES und N. HOEDE:

Ätiopathogenese der Psoriasiskrankheit.

Med. Welt 24 (1973) 429-434

37. HOLZMANN, H., B. MORSCHES, R. KRAPP, G.W. OERTEL
und P. MENZEL:

Kann die Schuppenflechte als DHEA-mangelsyndrom
aufgefaßt werden?

Z. Haut Geschlechtskr. 46 (1971) 785-794

38. HOLZMANN, H., B. MORSCHES und J. KUNZ:

Zum Sauerstoffverbrauch der Erythrozyten von
Psoriatikern.

Klin. Wschr. 48 (1970) 246-247

39. JENSEN, E.V., et al.:

Estrogen receptors and breast cancer response to
adrenalectomy

T.C. Hall (ed), National Cancer Institute monograph
No 34, US Printing office (1971) 55-70

40. KARLSON, P.:

Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und
Naturwissenschaftler

Stuttgart, G. Thieme Verlag 1970, 7. Auflage,
241-242

41. KEPP, R., und H.J. STAEMMLER:

Lehrbuch der Gynäkologie

Stuttgart, G. Thieme Verlag 1971, 10. Auflage

42. KERN, G.:

Gynäkologie. Ein kurzgefaßtes Lehrbuch

Stuttgart, G. Thieme Verlag 1970

43. KIRKMAN, H.N.:

Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase from human
erythrocytes

I. Further purification and characterization.

J. Biol. Chem. 237 (1962) 2364

44. KUMAOKA, S., N. SAKAUCHI, O. ABE, M. KUSAMA
and O. TAKATANI:
Urinary 17-ketosteroid excretion of women with
advanced breast cancer.
J. clin. Endocrin 28 (1968) 667
45. LEUNG, B.S., FLETCHER, W.S., LINDELL, T.D.,
WOOD, D.C., KRIPPAECHNE, W.W.:
Predictability of response to endocrine ablation
in advanced breast carcinoma.
Arch. Surg. 106 (1973) 515-519
46. LEVY, H.R.:
The Pyridine nucleotide Specificity of Glucose-6-
Phosphate Dehydrogenase.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 6 (1961) 49-53
47. LEVY, H.R.:
The interaction of mammary glucose-6-phosphate-
dehydrogenase with pyridin nucleotides and 3 β -
hydroxy-androst-5-en-17-one.
J. Biol. Chem. 238 (1963) 775-784
48. LIMBURG, H., M. KRAHE:
Die Züchtung von menschlichem Krebsgewebe in der
Gewebekultur und seine Sensibilitätstestung gegen
neuere Zytostatika.
Dtsch. Med. Wschr. 89 (1964) 1938-1946

49. MAC MAHON, B., P. COLE, J.B. BROWN, K. AOKI,
T.M. LIN, R.W. MORGAN and N.C. WOO:
Oestrogen profiles of Asian and North American
women.
Lancet 11 (1971) 900-902
50. MARKS, P.A. und J. BANKS:
Inhibition of mammalian glucose-6-phosphate
dehydrogenase by steroids.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 46 (1960) 447-452
51. MARKS, P.A. und J. BANKS:
Steroid hormone inhibition of mammalian glucose-
6-phosphate dehydrogenase.
J. Clin. Invest. 39 (1960) 1010-1011
52. MARKS, P.A., A. SZEINBERG and J. BANKS:
Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase of
normal and mutant human subjects.
J. Biol. Chem. 236 (1961) 10-17
53. MC KERNS, K.W. and E. KALEITA:
Inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase
by hormones.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 2 (1960) 344-348
54. MC GUIRE, W.L.:
Current status of estrogen receptors in human

breast cancer.

Cancer 36 (1975) 638-644

55. NEISER, J., W. RINDT, P. KNAPSTEIN, G.W. OERTEL:

Freie und konjugierte Steroide im Plasma, Galle und Harn des Meerschweinchens nach Gabe von ^3H -markiertem DHEA, DHEA-Sulfat und DHEA-Sulfatid.

Europ. J. Steroids 1 (1966) 15

56. NIELSON, M.H., and J.C. WARREN:

Steroid effects on glucose-6-phosphate dehydrogenase from bovine corpora lutea.

Biochem. Biophys. Acta 97 (1965) 532-541

57. OERTEL, G.W.:

Über Steroidkonjugate im Plasma. XVII.

Isolierung und Charakterisierung lipophiler Steroidkonjugate aus Nebennierenrindengewebe, Plasma und Liquor.

Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chemie 343 (1966) 276-281

58. OERTEL, G.W., und L. Beck:

In-vivo Perfusion des menschlichen Ovars mit (7α - ^3H) Androstenolon-Sulfatid.

Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol. Chemie 352 (1971) 689-694

59. OERTEL, G.W.:

Dehydroepiandrosteron in biochemischer und klinischer Sicht.

Arzneim. Forsch. 21 (1971) 543-545

60. OERTEL, G.W., P. BENES, M. SCHIRAZI, H. HOLZMANN und G. HOFFMANN:

Interaction between dehydroepiandrosterone, cyclic-adenosine-3'5'-monophosphate and glucose-6-phosphate dehydrogenase in normal and diseased subjects.

Experientia 30 (1974) 872-873

61. OERTEL, G.W., P. BENES, G. HOFFMANN and E. SCHUY:

Interaction between dehydroepiandrosterone, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and cyclic adenosin-3'5'-monophosphate in neoplastic and normal human mammary tissue.

Experientia 31 (1975) 1124

62. OERTEL, G.W., und K. GROOT:

Über Steroidkonjugate im Plasma XV.

In-vivo-Biogenese von C₁₉-Steroid-Sulfatiden.

Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol. Chemie 341 (1965)
204-214

63. OERTEL, G.W., P. KNAPSTEIN und L. TREIBER:

Über Steroidkonjugate im Plasma XIX.

Direkter und indirekter Metabolismus von i.v. verabreichtem ³H- und ³⁵S-markiertem Androstenson-sulfat.

Hoppe-Seyler's Zschr. Physiol. Chemie 345 (1966)
221-235

64. OERTEL, G.W., und P. MENZEL:

Ausscheidung von Östrogenen und Testosteron nach
Gabe von Dehydroepiandrosteronsulfat.

Arzneim. Forsch. 20 (1970) 1865-1866

65. OERTEL, G.W., und I. REBELEIN:

Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates
upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase
in human erythrocytes.

Biochim. Biophys. Acta 184 (1969) 459-460

66. OERTEL, G.W., and I. REBELEIN:

Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates
upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase
I. Inhibition of human red blood cell glucose-6-
phosphate dehydrogenase.

J. Steroid.Biochem. 1 (1970) 93-97

67. OERTEL, G.W., W. RINDT, A.K.J. BRACHETTI, H. HOLZMANN
and B. MORSCHES:

Metabolism of free DHEA and certain sulfoconjugates
in cell cultures from neoplastic and normal human
tissue.

Steroids Lipids Res. 3 (1972) 345-352

68. OKITA, G.J., J.J. KABARA, F. RICHARDSON and G.V. LE ROY:
Assaying compounds containing ^3H and ^{14}C .
Nucleonics 15 (1957) 111-115
69. PFLEIDERER, A.:
Diagnostik des Ovarialkarzinoms.
Dtsch. Ärzteblatt 5 (1976) 265-272
70. POORTMAN, J., J.H. THIJSEN, F. SCHWARZ:
Androgen production and conversion to estrogens in normal postmenopausal women and in selected breast cancer patients.
J. clin. Endocrin. Metab. 37 (1973) 101-109
71. POORTMAN, J., J.A.C. PRENEN, F. SCHWARZ and J.H. THIJSEN:
Interaction of Δ^5 -Androstene- 3β , 17β -diol with estradiol and dihydrotestosterone receptors in human myometrial and mammary cancer tissue.
J. Clin. Endocrin. Metab. 40 (1975) 374-379
72. RAPOPORT, S.M.:
Medizinische Biochemie.
Berlin VEB Volk und Gesundheit (1975) 6. Auflage

73. ROSENFELD, R.S., L. HELLMAN and T.F. GALLAGHER:
Metabolism and interconversion of dehydroisoandrosterone sulfate and dehydroisoandrosterone.
J. Clin. Endocrin. Metab. 35 (1972) 187-193
74. SALFELD, K., und H. VOGELSBERG:
Das Verhalten einiger Serumenzyme bei Psoriasis.
Ihre Herkunft und pathogenetische Bedeutung.
Arch. Klin. Exp. Derm. 224 (1966) 318-328
75. SCHIRAZI, M., J. SCHWARZ and G.W. OERTEL:
Steroid conjugates in plasma XXVII.
Binding of DHEA-sulfatide and DHEA-sulfate to human plasma proteins as studied by elektrophoresis.
Steroids Lipids Res. 4 (1973) 98-104
76. SEGI, M.:
Cancer mortality in Japan 1953-1955.
Sendai, Japan, Dept. of public health, Tohoku University (1957)
77. SONKA, J., VITKOVA, M., I. GREGOROVA, Z. TOMSOVA, J. HILGERTOVA, J. STAS:
Plasma and urinary dehydroepiandrosterone in cancer.
Endokrinologie 62 (1973) 61-68

78. SONKA, J., und I. GREGOROVA:

Dehydroepiandrosteron - ein neuer Zutritt zur
Pathogenese der Obesität.

Endokrinologie 43 (1962) 204-214

79. SONKA, J., I. GREGOROVA, M. JIRANEK, F. KÜLBEL
und J. MATYS:

Defekt des Dehydroepiandrosteron - ein neues
Syndrom?

Endokrinologie 47 (1965) 152-161

80. STRUBEL, H.B., W. RINDT, G. HOFFMANN, M. SCHIRAZI
and G.W. OERTEL:

Cytostatic effects of glucose-6-phosphate
dehydrogenase inhibitors in cell cultures from
normal and neoplastic tissue.

Steroids and Lipids Res. 5 (1974) 101-106

81. TREIBER, L., W. RINDT und G.W. OERTEL:

Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. II. Anwendung der Methode bei Plasmaanalysen.

Zschr. klin. Chem. u. klin. Biochem. 5 (1967) 102-106

82. TREIBER, L., und G.W. OERTEL:

Zur Bestimmung von Ketosteroiden mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. I. Beschreibung der Methode.

Zschr. Klin. Chem. u. klin. Biochem. 5 (1967) 83-86

83. TREIBER, L., und G.W. OERTEL:

Bestimmung von Ketostéroiden mittels der 2,4-Dinitrophenylhydrazinreaktion. In: 13. Symposion der deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Würzburg 2. - 4. März 1967, S. 287-290, Berlin, Heidelberg, New York 1968

84. VOLM, M., K. KAUFMANN:

Schnellmethode zur Sensibilitätstestung maligner Tumoren gegenüber Cytostatika.

Klin. Wschr. 48 (1970) 374-376

85. WAGNER, R.L., L. GÖRLICH and P. JUNGBLUT:

Multiple steroid hormone receptors in calf uterus, binding specifities and distribution.

Hoppe Seyler's Zschr. Physiol.Chem. 353 (1972) 1654

86. WAGNER, R.L., L. GÖRLICH and P.W. JUNGBLUT:

Dihydrotestosterone receptor in human mammary cancer.

Acta Endocrinol (Kbh)(Suppl) 173 ((1973) 65

87. WANG, D.Y.:

Plasma androgens in breast cancer, in: The human adrenal gland in relation to breast cancer, First Tenovus Workshop (Edited by K. Griffiths and E.H.D. Cameron) S. 71.

Alpha Omega Alpha, Caerphilly (1969)

88. WANG, D.Y., R.D. BULBROOK, J. GUILLEBAUD
and A. LEWIS:

The relation between sebum production and plasma
17-oxosteroid levels in normal women and in
patients with breast cancer.

Europ. J. Cancer (1972) 381-385

89. WANG, D.Y., J.L. HAYWARD and R.D. BULBROOK:

Testosterone levels in the plasma of normal women
and patients with benign breast disease or with
breast cancer.

Europ. J. Cancer 2 (1966) 373

90. WARBURG, O., und W. CHRISTIAN:

Über Aktivierung der Robison'schen Hexose-Mono-
Phosphorsäure in roten Blutzellen und die Ge-
winnung aktivierender Fermentlösungen.

Biochem. Z. 242 (1931) 206

91. WEBER, G.:

Über das Vorkommen der Glucose-6-Phosphat-
Dehydrogenase im Blutserum von Psoriasis-vulgaris-
Kranken.

Arch. Klin. Exp. Derm. 215 (1963) 603-612

92. WIELAND, R.G., R.P. LEVY, D. KATZ and H. HIRSCHMANN:

Evidence for secretion of 3 β -hydroxyandrost-5-en-
17one sulfate by measurement in normal human
adrenal venous blood.

Biochim. Biophys. Acta 78 (1963) 566

93. WYNDER, E.L., I.J. GROSS and T. HIRAYAMA:

A study of the epidemiology of cancer of the breast.
Cancer 13 (1960) 559-601

94. Abbildung 1 zusammengestellt aus

VOSS, H.E. und G.W. OERTEL:

Androgene I.

III. Chemie der Androgene.

Berlin, Heidelberg, New York,
Springer-Verlag (1973) 98-159

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von August 1973 bis November 1977 in der Abteilung für experimentelle Endokrinologie der Frauenklinik (Direktor: Prof. Dr. V. Friedberg) der Johannes Gutenberg-Universität Mainz auf Anregung und unter Anleitung von Prof. Dr. G. W. Oertel, der leider im November 1975 nach schwerer Krankheit verstorben ist. Ihm bin ich für die Überlassung des Themas und die Betreuung des experimentellen Teils der Arbeit dankbar.

Herrn Prof. Dr. G. Rathgen danke ich für die weitere Betreuung der Arbeit nach dem Tode von Prof. Oertel und die Übernahme des Referats.

Herrn Dr. P. Benes aus der Abteilung für experimentelle Endokrinologie danke ich für wertvolle Ratschläge bei der Durchführung der Experimente und der Abfassung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. V. Friedberg danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Lebenslauf

Am 6.4.1948 wurde ich als Sohn des Jurastudenten Günter Ellenberger und seiner Ehefrau Marianne, geb. Fink, in Kassel geboren.

Von 1954 an besuchte ich zuerst 3 Jahre lang die Volksschule in Kassel Wilhelmshöhe und ab 1957 die Volksschule in Trier. 1958 wechselte ich auf das Gymnasium in Trier, wo ich im Juli 1967 die Reifeprüfung am Hindenburg-Gymnasium Trier bestand. Im Oktober 1967 wurde ich durch meinen Stiefvater, Dr. phil. Hans-Joachim Troeber, adoptiert. Wehrdienst leistete ich vom 1.10.1967 bis 31.3.1969 bei der Luftwaffe der Bundeswehr.

Am 15.4.1969 begann ich mit dem Studium der Physik an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Im Wintersemester 1969 erhielt ich einen Studienplatz in der Medizinischen Fakultät und legte im Sommersemester 1970 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. Im Sommer 1972 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung und am 1.12.1975 die Ärztliche Prüfung.

Im Dezember 1974 heiratete ich die Ärztin Lore Bahm; am 28.8.1975 wurde unsere Tochter Sabine und am 20.4.1978 unsere Tochter Leonie geboren.

Meine Medizinalassistentenzeit verbrachte ich in der I. Medizinischen Klinik und in der Universitätsaugenklinik in Mainz und in der Chirurgie des DRK Alice-Krankenhauses in Mainz.

Die Approbation als Arzt erhielt ich zum 1.1.1977. Vom 1.1.1977 an war ich 1 Jahr als Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Pathologischen Institut der Universität

Mainz tätig. Ab 1.1.1978 bin ich als Assistent
in der Universitätsaugenklinik Mainz und strebe
die Facharztanerkennung für Augenheilkunde an.

